



**ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE DE *EUCALYPTUS* SP. A  
*LEPTOCYBE INVASA* E *OPHELMUS MASKELLI*  
(HYMENOPTERA: EULOPHIDAE)**

**Márcia Sofia Revez dos Santos**

Dissertação para obtenção do grau de mestre em  
**Engenharia Florestal e dos Recursos Naturais**

Orientador: Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões

**Júri:**

Presidente: Doutora Maria Helena Reis de Noronha Ribeiro de Almeida, Professora Associada do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Vogais: Doutora Manuela Rodrigues Branco Simões, Professora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Doutor José Carlos Franco Santos Silva, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade Técnica de Lisboa

Lisboa, 2009

A todos os que me ajudaram ao longo desta etapa, no campo, no laboratório, no tratamento dos dados e nas correcções, sejam eles professores, colegas, amigos e família, Muito Obrigada!!

Este resultado não seria possível sem o vosso apoio.

## RESUMO

*Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* são duas espécies galícolas associadas a eucaliptos, recentemente observadas em Portugal pela primeira vez. O presente estudo visa avaliar a susceptibilidade de diferentes materiais genéticos do género *Eucalyptus* a estas duas espécies. Economicamente, este género é muito importante para o país, principalmente para a indústria papelreira, em particular devido ao uso de *Eucalyptus globulus*. Os resultados obtidos, pela monitorização num parque de famílias de *E. globulus* e de híbridos de *Eucalyptus* sp., revelaram diferenças significativas nos níveis de susceptibilidade a ambas as espécies galícolas, quer entre híbridos quer ao nível intra-específico entre famílias de *E. globulus*. Ainda assim *E. globulus* revelou ser uma espécie pouco susceptível, em particular a *L. invasa*. A presença de um dos progenitores *E. globulus* nas plantas híbridas revelou uma susceptibilidade semelhante à média dos restantes híbridos para *O. maskelli*, mas uma susceptibilidade inferior para *L. invasa*. Verificou-se ainda que a presença de uma das espécies galícolas aparentemente influencia a outra, no sentido do estabelecimento de competição inter-específica, visível nos padrões de distribuição ao nível da planta e na evolução temporal.

**Palavras-chave:** *Leptocybe invasa*, *Ophelimus maskelli*, *Eucalyptus* sp., susceptibilidade, híbridos, famílias

## ABSTRACT

*Leptocybe invasa* and *Ophelimus maskelli* are two insect species originating galls to *Eucalyptus* spp. which were recently found in Portugal. In this work the susceptibility of different *Eucalyptus* genetic materials to both species is evaluated. *Eucalyptus* sp. are very important in Portugal, in particular *Eucalyptus globulus*, mostly used for the pulp industry. Damage by high infestations to the host plants might cause important economic losses. The use of resistant plant materials might be one possible solution which justifies this study. The present results revealed significant differences in susceptibility to both insects, between different families of *E. globulus*, different species and hybrids. Concerning the hybrids, the presence of *E. globulus* as one of the parents in comparison with the other hybrids revealed similar susceptibility to *O. maskelli*, but less susceptibility to *L. invasa*. It was also shown that the presence of one wasp species apparently influences the other, both regarding its distribution pattern in the host plant and temporal trends, which might be justified by inter-specific competition.

**Keywords:** *Leptocybe invasa*, *Ophelymus maskelli*, *Eucalyptus* sp., susceptibility, hybrids, families

## SUMMARY

*Leptocybe invasa* Fisher & La Salle is a small insect originated from Australia, described in 2000 for the first time from specimens collected in the Middle East (Mendel *et al.*, 2004). It belongs to the subfamily Tetrastichinae, family Eulophidae, superfamily Chalcidoidea and originates bump-like galls in the main rib of the leaf, the petiole and/or new twigs (Durand, 2007; OEPP, 2006c; Mendel *et al.*, 2004). *Ophelimus maskelli* Ashmead belongs to the subfamily Eulophinae, family Eulophidae, superfamily Chalcidoidea and it was found for the first time in the Mediterranean countries in 2000 (Arzone & Alma 2000, Viggiani & Nicotina 2001). This species appeared in Israel in 2003 (Protasov *et al.* 2007b) and in Portugal in 2006 (Branco *et al.*, 2009). *O. maskelli* produces small galls similar to pustules which might occupy all the leaf (Laudonia & Viggiani, 2003), with a tendency to develop in the developing leaf blade of the low crown (Protasov *et al.*, 2007b).

Due to the fact that these species were recently introduced in Portugal, there is a lack of natural enemies, added to the fact that these two gall-forming species are highly invasive, a fast proliferation of its distribution is expected attaining high densities, as observed in other regions (e.g. Mendel *et al.*, 2004). In these circumstances intense damage by high defoliation is anticipated to eucalyptus plants, especially to the most susceptible genetic materials.

The main objective of this study was to evaluate the differences on susceptibility of different *Eucalyptus* genetic materials to both gall-forming species recently found in Portugal. Additionally, it was studied the distribution patterns of the two insects on the affected plants which could possibly explain an inter-specific competition relationship.

*Eucalyptus globulus* is one of the most important species for Portugal's forest economy yet, in previous research works, *E. globulus* was found to be highly susceptible to both gall-forming insects (e.g. Mendel *et al.*, 2004; Protasov *et al.*, 2007b). In the present study we surveyed 18 families of *E. globulus* ssp. *globulus* located in park in an area highly affected by the two insects. Our results evidence a low susceptibility of most of the families surveyed to the two gall-forming species, and in particular to *L. invasa*, being 7 families completely resistant to this insect. Nevertheless, a significant difference in susceptibility was found between families, with a few genotypes evidencing a moderate attack, between 10 and 30% of leaves attacked. Genetic factors combined with environmental factors influence plants inter and intra-specific susceptibility variation to distinct pathogens. In this work all plants were planted in the same area and were of similar age and plantation conditions, so we assume that the differences found are due to genetic factors and thus this might be taken in consideration when selecting genetic materials for plantation plans. The NIR spectral analyses of the attacked and non-attacked leaves by *L. invasa* did not reveal any distinction between resistant and susceptible genotypes, opposite to the assumed.

The use of hybrid species in production programs should consider the fact that although these plants present better developmental features, they might be less resistant to pest and pathogens than the pure parental species. In the present study, significant differences between hybrid genotypes to both insects were found yet, on overall, the susceptibility was very high, being the percentage of leaves attacked higher than 10% for about 2/3 of the hybrids sampled. Considering the hypothesis that hybrid crossings originated from one parent *E. globulus* were less susceptible than other possible crossings, we compared these two types of hybrids. Our results evidenced significant differences between the two groups of genotypes for *L. invasa* only, which means that, according to our study this species differentiates hybrids with or without *E. globulus*, preferring the latter.

Comparing two successive years, i.e. 2007, when only *L. invasa* was present in the area, and 2008, when both wasp species coexisted, a reduction of the average attacked leaves by *L. invasa* was found ( $t_{72}=3.622$ ,  $p=0.001$ ) which may be explained by the competition with *O. maskelli*. In agreement, a significant negative correlation was found between the percentage of leaves attacked by both species in the hybrids genotypes. When searching for distribution patterns of both species at leaf level (hybrids), and branch and tree levels (hybrids and *E. globulus* families) there were in most of the cases, signs of dissociation, which was significant at leaf level, corroborating the hypothesis of niche differentiation due to inter-specific competition between *L. invasa* and *O. maskelli*.

**Keywords:** *Leptocybe invasa*, *Ophelymus maskelli*, *Eucalyptus* sp., susceptibility, hybrids, families

## ÍNDICE

Resumo.....	i
Abstract.....	ii
Summary.....	iii
Índice.....	v
Índice de Figuras.....	vi
Índice de Quadros.....	viii
<b>1.Enquadramento do tema.....</b>	<b>1</b>
1.1.Introdução.....	1
1.2.Galhas e organismos indutores de galhas.....	3
1.3.Biologia, distribuição e estragos de <i>Leptocybe invasa</i> e <i>Ophelimus maskelli</i> .....	6
1.4.Meios de controlo.....	9
1.5.Espécies hospedeiras e susceptibilidade.....	11
<b>2.Material e métodos.....</b>	<b>13</b>
2.1.Local e material vegetal amostrados.....	13
2.2.Amostragem de híbridos de <i>Eucalyptus</i> sp.....	14
2.3.Amostragem de diferentes famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	14
2.4.Análise de folhas por Espectrometria de Infra-vermelho Próximo (NIRS).....	16
2.5.Análise dos dados.....	17
<b>3.Resultados.....</b>	<b>18</b>
3.1.Susceptibilidade de diferentes híbridos de <i>Eucalyptus</i> spp. a <i>Leptocybe invasa</i> e a <i>Ophelimus maskelli</i> .....	18
<i>Amostragem de 2008</i> .....	18
<i>Variação inter-anual</i> .....	21
3.2.Susceptibilidade de diferentes famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> a <i>Leptocybe invasa</i> .....	23
<i>Ensaio de campo</i> .....	30
3.3.Análise de folhas de clones resistentes e susceptíveis a <i>Leptocybe invasa</i> por Espectrometria de Infra-vermelho Próximo (NIRS).....	30
3.4.Padrões de distribuição de <i>Leptocybe invasa</i> e <i>Ophelimus maskelli</i> .....	31
<b>4.Discussão.....</b>	<b>33</b>
<b>5.Conclusões.....</b>	<b>38</b>
<b>6.Bibliografia.....</b>	<b>40</b>
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Fig.1:</b> <i>Leptocybe invasa</i> Fisher & LaSalle, indivíduo adulto (Foto: <a href="http://www.kkl.org.il/.../pwasp2.jpg">www.kkl.org.il/.../pwasp2.jpg</a> , Z. Mendel).....	6
<b>Fig.2:</b> Galhas de <i>Leptocybe invasa</i> formadas na nervura principal da folha de um híbrido de <i>Eucalyptus</i> sp.. Recolha em Pegões (Foto: Autora).....	7
<b>Fig.3:</b> Galhas de <i>Leptocybe invasa</i> e <i>Ophelimus maskelli</i> em diversos locais da planta, num povoamento de híbridos de <i>Eucalyptus</i> sp. em Israel (Foto: <a href="http://www.kkl.org.il/.../ptzira2.jpg">www.kkl.org.il/.../ptzira2.jpg</a> ).....	7
<b>Fig.4:</b> <i>Ophelimus maskelli</i> , indivíduo adulto (Foto: <a href="http://www.cienciahoje.pt/files/22/22833.jpg">www.cienciahoje.pt/files/22/22833.jpg</a> , Z. Mendel).....	8
<b>Fig.5:</b> Larva de <i>Ophelimus maskelli</i> no interior de uma galha. Foto: <a href="http://imagenes.infojardin.com/.../arx1194870539e.jpg">imagenes.infojardin.com/.../arx1194870539e.jpg</a> ).....	8
<b>Fig.6:</b> Ataques de <i>Ophelimus maskelli</i> em diferentes espécies de <i>Eucalyptus</i> sp. (Foto: <a href="http://photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_01.jpg">photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_01.jpg</a> , F. Aytar).....	9
<b>Fig.7:</b> Ataques de <i>Ophelimus maskelli</i> em diferentes espécies de <i>Eucalyptus</i> sp. (Foto: <a href="http://photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_06.jpg">photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_06.jpg</a> , F. Aytar).....	9
<b>Fig.8:</b> Localização da área de estudo. a) Parque de <i>Eucalyptus globulus</i> , b) Parque de híbridos, c) Clones de <i>Eucalyptus globulus</i> identificados como resistentes e susceptíveis.....	13
<b>Fig.9:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) por <i>Leptocybe invasa</i> em genótipos híbridos de <i>Eucalyptus</i> spp.. Nas classe 1 (nº de galhas/folha < 40) e classe 2 (nº de galhas/folha > 40). Assinalam-se com * os genótipos que têm um progenitor <i>Eucalyptus globulus</i> spp. <i>globulus</i> .....	18
<b>Fig.10:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) por <i>Ophelimus maskelli</i> em genótipos híbridos de <i>Eucalyptus</i> spp.. Nas classe 1 (nº de galhas/folha < 40) e classe 2 (nº de galhas/folha > 40). Assinalam-se com * os genótipos que têm um progenitor <i>Eucalyptus</i> spp. <i>globulus</i> .....	19
<b>Fig.11:</b> Ordenação dos híbridos de <i>Eucalyptus</i> sp. de acordo com a sua susceptibilidade a <i>Leptocybe invasa</i> . Os híbridos incluídos na mesma barra não diferem entre si estatisticamente ( $\alpha=0.05$ ) (Dunnet's T3).....	20
<b>Fig.12:</b> Ordenação dos híbridos de <i>Eucalyptus</i> sp. de acordo com a sua susceptibilidade a <i>Ophelimus maskelli</i> . Os híbridos incluídos na mesma barra não diferem entre si estatisticamente ( $\alpha=0.05$ ) (Dunnet's T3).....	20
<b>Fig.13:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) por <i>Leptocybe invasa</i> em dois anos de amostragem 2007 e depois, antes e depois da ocorrência de <i>Ophelimus maskelli</i> na	



região, respectivamente.....	21
<b>Fig.14:</b> Variação na percentagem de ataque por <i>Leptocybe invasa</i> em dois anos consecutivos de amostragem, 2007-2008. Parque de Híbridos do RAIZ. Pegões.....	22
<b>Fig.15:</b> Variação na percentagem de ataque por <i>Leptocybe invasa</i> em dois anos consecutivos de amostragem, 2007-2008 e percentagem de folhas atacadas por <i>O. maskelli</i> em 2008. Pegões.....	23
<b>Fig.16:</b> Susceptibilidade a <i>Leptocybe invasa</i> de famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> na amostragem de 13 de Fevereiro (de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).....	24
<b>Fig.17:</b> Susceptibilidade a <i>Leptocybe invasa</i> de famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> na amostragem de 16 de Maio (de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).....	24
<b>Fig.18:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) a 13 de Fevereiro de 2008, por <i>Leptocybe invasa</i> , em clones de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	25
<b>Fig.19:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) a 16 de Maio de 2008, por <i>Leptocybe invasa</i> , em clones de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	26
<b>Fig.20:</b> Percentagem de ataque por <i>L. invasa</i> (classe 1 e 2) e erro padrão, para ambas as datas de amostragem.....	26
<b>Fig.21:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) a 13 de Fevereiro de 2008, por <i>Ophelimus maskelli</i> , em clones de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	27
<b>Fig.22:</b> Percentagem de ataque ( $\pm$ erro padrão) a 16 de Maio de 2008, por <i>Ophelimus maskelli</i> , em clones de <i>Eucalyptus globulus</i> .....	27
<b>Fig.23:</b> Percentagem de ataque por <i>O. maskelli</i> (classe 1 e 2) e erro padrão, para ambas as datas de amostragem.....	28
<b>Fig.24:</b> Famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> ordenadas de acordo com a sua susceptibilidade a <i>Ophelimus maskelli</i> na amostragem de 13 de Fevereiro (famílias sobre a mesma barra, não são significativamente distintas, de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).....	29
<b>Fig.25:</b> Famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> ordenadas de acordo com a sua susceptibilidade a <i>Ophelimus maskelli</i> em famílias de <i>Eucalyptus globulus</i> na amostragem de 16 de Maio (famílias sobre a mesma barra, não são significativamente distintas, de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).....	29
<b>Fig.26:</b> Resultado gráfico da análise das folhas de clones resistentes e susceptíveis a <i>Leptocybe invasa</i> por NIRS.....	30

## ÍNDICE DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b> Organismos indutores de galhas e seus hospedeiros (Austin <i>et al.</i> , 2004; Buss, 2003; Craig <i>et al.</i> , 1991; Crespi <i>et al.</i> , 1998; Edwards <i>et al.</i> , 2000; Kim <i>et al.</i> 2005; Lamb, 1960; Shorthouse & Rohfritsch, 1992; Urso-Guimarães & Scareli-Santos, 2006; Watson & Dallwitz, 2003; Williams, 1994; Yukawa, 1983).....	4
<b>Quadro 2:</b> Plantas monitorizadas no ensaio MG298, no concelho de Ponte de Sôr.....	15
<b>Quadro 3:</b> Genótipos e número de plantas em vaso monitorizadas nas instalações do RAÍZ, com indicação da sua susceptibilidade, determinada em estudo prévio (R-resistente, S-susceptível) (Durand, 2007).....	15

# 1. ENQUADRAMENTO DO TEMA

## 1.1. Introdução

A resistência das plantas a pragas e doenças é uma característica que varia tanto em função de factores ambientais, em particular os que afectam a fisiologia das plantas, como de factores genéticos, existindo um vasto número de estudos sobre este tema (e.g. Aguilar & Boecklen, 1992; Bailey, 2006; Dix *et al.*, 1996; Floate *et al.*, 1997; Fritz *et al.*, 1994; Fritz, 1999; Heidger & Lieutier, 2002; Kirkpatrick, 1975; Rossi, 1996; Rousi *et al.*, 1997; Schvester & Ughetto, 1986; Stiling & Ylloja *et al.*, 2000; Zas *et al.*, 2006). No que respeita aos factores genéticos, há evidência de que diferentes materiais genéticos apresentam diferenças de susceptibilidade a agentes bióticos, herbívoros e patogénios, observável quer entre diferentes espécies, quer ao nível intra-específico entre populações, proveniências ou famílias da mesma espécie (Barre *et al.*, 2002; Dix *et al.*, 1996; Dungey *et al.*, 1997; Hodge e Dvorak, 2000; Johnson *et al.*, 1997; McClure, 1980; Milgate *et al.*, 2005; Quencez *et al.*, 2001; Raddi & Fagnani, 1981; Rousi *et al.*, 1997; Toda *et al.*, 1993). Além dos aspectos de interesse científico, que permitem compreender os mecanismos de interacção entre as plantas e os seus herbívoros e patogénios, estes estudos têm um interesse prático que assenta no facto de se poder usar materiais genéticos mais resistentes e mais adequados a locais ou estações onde o risco para certas pragas e doenças é maior.

Neste trabalho procurou-se avaliar as diferenças de susceptibilidade de diferentes materiais genéticos do género *Eucalyptus* a duas espécies de himenópteros indutores de galhas, *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle e *Ophelimus maskelli* Ashmead (Hymenoptera: Eulophidae), recentemente registados em Portugal. Admitiu-se, por hipótese, que existem diferenças de susceptibilidade, quer inter-específica, quer intra-específica, dos eucaliptos àquelas duas espécies galícolas, à semelhança da variabilidade encontrada na susceptibilidade dos eucaliptos a distintos agentes patogénicos (e.g. Carnegie & Ades, 2005; Dungey *et al.* 1997; Milgate *et al.*, 2005). Procurou-se ainda estimar o grau de susceptibilidade de materiais genéticos, actualmente de maior interesse comercial em Portugal, em particular *E. globulus* e os seus híbridos.

Em numerosos países, distribuídos pela maior parte das regiões temperadas e quentes do globo, incluindo Portugal, os eucaliptos são plantados com objectivos económicos, em particular para a produção de pasta de papel ou biomassa. Muitas espécies de eucaliptos são também importantes na florestação de regiões áridas e semi-áridas de baixa altitude do médio Oriente e Norte de África. Em Portugal encontram-se com maior frequência *Eucalyptus globulus* Labill, a espécie de eucalipto mais importante no País para a produção

de pasta de papel, à semelhança do que sucede na maior parte das regiões temperadas do mundo; e *Eucalyptus camaldulensis* Dehn, usado entre nós sobretudo em parques urbanos e árvores de alinhamentos, e que no seu ambiente natural, isto é na Austrália, aparece tipicamente ao longo de cursos de água e em planos de cheia. *E. camaldulensis* é, no entanto, a espécie economicamente mais importante em plantações para a produção de madeira no médio Oriente (Mendel *et al.*, 2004). Até à data, em Portugal, *E. camaldulensis* tem manifestado níveis elevados de ataque pelos dois himenópteros galícolas, enquanto em *E. globulus*, a intensidade de ataque se tem mostrado reduzida (Branco *et al.*, 2006, 2009). No entanto, outros autores indicam *E. globulus* como sendo uma espécie susceptível quer a *L. invasa* (Mendel *et al.*, 2004), quer a *O. maskelli* (Protasov *et al.*, 2007b). Justifica-se assim o interesse em avaliar se existem diferenças intra-específicas em plantas de diferentes famílias de *E. globulus* na susceptibilidade aos dois himenópteros indutores de galhas. O facto de as indústrias papeleiras dependerem grandemente de uma das espécies considerada como susceptível às duas espécies galícolas em estudo poderá justificar a necessidade de se monitorizar estes insectos, avaliar as suas taxas de ataque e a presença de inimigos naturais ou outros meios alternativos de combate ou de prevenção por estratégias de condução dos povoamentos, que minimizem os seus prejuízos.

Do ponto de vista científico, o estudo da variabilidade genética à susceptibilidade destas duas espécies serve de modelo para a compreensão das diferenças de susceptibilidade existentes em plantas hospedeiras à herbívoros. Do ponto de vista prático, este tipo de estudos podem servir de base à selecção de materiais genéticos mais resistentes para posterior produção. Neste contexto há que entender que são factores condicionantes da susceptibilidade das plantas tanto a sua proveniência e materiais genéticos (Dungey *et al.*, 1997; Fusaro, 1997; Jensen & Deans, 2004; Milgate *et al.*, 2005; Robin & Desprez-Loustau, 1998; Schvester & Ughetto, 1986; Wainhouse & Ashburner, 1996), como as condições de estabelecimento das plantações (Highsmith *et al.*, 2001; Zas *et al.*, 2006), existindo ainda interacções possíveis entre estes dois tipos de factores (e. g. Malan, 1995; Martínez, 1990).

Dado que as duas espécies provocam galhas nas mesmas espécies hospedeiras e nos mesmos indivíduos (e.g. Mendel *et al.*, 2005; Protasov *et al.*, 2007b; Viggiani *et al.*, 2001; Viggiani *et al.*, 2002), visou-se ainda analisar se existe algum padrão de associação/dissociação entre os dois insectos galícolas. Pretendeu-se com este estudo elucidar alguns aspectos da ecologia das populações das duas espécies, em particular da existência de padrões de distribuição espacial nas plantas ou órgãos das plantas, que pudessem estar associados a uma possível competição inter-específica ou a diferente especialização em partes da planta. Por outro lado a colonização por *Ophelimus maskelli* é mais recente na área em estudo que a colonização por *L. invasa*. Em dados de 2007, obtidos das mesmas plantas e dos mesmos híbridos (Durand, 2007) apenas *L. invasa*

estava presente, logo a colonização por *O. maskelli* ocorreu entre 2007 e 2008. Existindo dados de 2007 sobre a susceptibilidade a *L. invasa*, procurou-se analisar se a recente colonização por *O. maskelli* teria afectado a intensidade de ataque daquela espécie, permitindo analisar as relações de competição entre as duas espécies.

## **1.2. Galhas e organismos indutores de galhas**

As galhas são estruturas particulares que surgem em determinadas zonas da planta por hiperplasia ou hipertrofia dos tecidos, inibição do desenvolvimento ou modificação celular como resposta ao ataque efectuado por determinados organismos, os indutores de galhas ou galícolas, também designados de cecidogéneos. Estes organismos podem ser vírus, bactérias, fungos, nemátodos, ácaros ou insectos e normalmente são específicos face aos seus hospedeiros (ver Quadro 1). Nos insectos galícolas, as galhas são induzidas pela oviposição (como acontece nos himenópteros) ou pela penetração pelas larvas neonatas nos tecidos da planta (como acontece nos dípteros). No interior das galhas são formadas câmaras individuais ou colectivas, onde o insecto se desenvolve até ao estado adulto. As galhas constituem meios que proporcionam fundamentalmente nutrição e protecção aos seus indutores, face às flutuações micro-climáticas e também aos seus inimigos. As galhas, no entanto, não representam para os galícolas espaços totalmente livres dos inimigos, já que, em particular os parasitóides específicos conseguem localizar e parasitar os seus hospedeiros no interior das galhas (Stone & Schönrogge, 2003). As galhas distinguem-se de outro tipo de abrigos gerados por insectos (como o enrolamento das folhas ou as minas foliares) pelo facto de envolverem uma diferenciação activa e crescimento do tecido das plantas (Crespi *et al.*, 1998; Shorthousse & Rohfritsch, 1992; Stone & Schönrogge, 2003; Williams, 1994). Dada a sua especificidade, muitos insectos indutores de galhas são sensíveis a pequenas diferenças nas plantas da mesma espécie, o que permite, nalguns casos, usá-los para separar espécies híbridas de progenitoras (e.g. Dungey *et al.*, 2000; Morrow *et al.*, 1994; Whitham, 1989).

**Quadro 1:** Organismos indutores de galhas e respectivos hospedeiros (Austin *et al.*, 2004; Buss, 2003; Craig *et al.*, 1991; Crespi *et al.*, 1998; Edwards *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2005; Lamb, 1960; Shorthouse & Rohfritsch, 1992; Urso-Guimarães & Scareli-Santos, 2006; Watson & Dallwitz, 2003; Williams, 1994; Yukawa, 1983)

Ordens	Superfamílias	Famílias	Hospedeiros
Diptera	Sciaroidea	Cecidomyiidae	Asteraceae, Leguminosae, Araliaceae, Euphorbiaceae, Malpighiaceae, Myrtaceae, Vochysiaceae, <i>Fagus</i> sp. e <i>Quercus</i> sp. (Fagaceae), Brassicaceae e Rosaceae
Hymenoptera	Cynipoidea	Cynipidae	<i>Quercus</i> sp., Rosaceae
	Chalcidoidea	Eurytomidae	Poaceae, <i>Rhus</i> sp. (Rutaceae), Umbelliferae, Leguminosae, <i>Medicago</i> sp., <i>Vitis</i> sp., <i>Ceanothus</i> sp., Sapindaceae
		Pteromalidae	<i>Eucalyptus</i> sp. (Myrtaceae), <i>Acacia</i> sp. (Mimosaceae), Elaeocarpaceae, Leguminosae, Poaceae
		Eulophidae	Euphorbiaceae, Loranthaceae, Piperaceae, Vochysiaceae, <i>Eucalyptus</i> sp. (Myrtaceae), Solanaceae, Fabaceae, Anacardiaceae, Combretaceae, <i>Acacia</i> sp. (Mimosaceae), Moraceae, Salvadoraceae
		Agaonidae	<i>Ficus</i> sp. (Moraceae)
		Perilampidae	<i>Eucalyptus</i> sp. (Myrtaceae); <i>Quercus</i> sp. (Fagaceae)
		Encyrtidae	Asteraceae, Leguminosae, Fagaceae
		Torymidae	<i>Eucalyptus</i> sp. (Myrtaceae), <i>Abies</i> sp., <i>Cedrus</i> sp., <i>Chamaecyparis</i> sp., <i>Ilex</i> sp., <i>Juniperus</i> sp., <i>Larix</i> sp., <i>Picea</i> sp., <i>Pseudotsuga</i> sp., <i>Tsuga</i> sp., <i>Rosa</i> sp., <i>Pistacia</i> sp.
	Tenthredinoidea		Rosaceae, Betulaceae, Salicaceae, Fagaceae, Ericaceae, <i>Picea</i> sp., <i>Larix</i> sp.
	Cephoidea		Salicaceae, Betulaceae, Rosaceae, Ericaceae, Fagaceae, Pinaceae, Cupressaceae
Hemiptera			Euphorbiaceae, Fagaceae, Lauraceae, Moraceae, Myrtaceae, Asteraceae, Fabaceae, Apocynaceae, Anacardiaceae, Brassicaceae, Aquifoliaceae, Combretaceae, Salicaceae, Solanaceae, Vitaceae, Rosaceae
Acari	Eriophyoidea		<i>Fagus</i> sp., <i>Quercus</i> sp., <i>Acer</i> sp., <i>Persea</i> sp., <i>Zelkova</i> sp.,
Thysanoptera			Leguminosaceae, Araliaceae, Melastomataceae, Myrtaceae
Coleoptera	Curculionoidea	Curculionidae	Asteraceae, Euphorbiaceae, Alismaceae, Fagaceae, Myrtaceae, Solanaceae, Tiliaceae, Vitaceae, Annonaceae
		Apionidae	Ebenaceae, Melastomataceae
	Buprestoidea	Buprestidae	<i>Cardus</i> sp., Bignoniaceae
	Chrysomeloidea	Cerambycidae	<i>Populus</i> sp., Euphorbiaceae
Lepidoptera	Gelechioidea	Gelechiidae	Asteraceae, Melastomataceae, Fabaceae, Fagaceae, Betulaceae, Solanaceae
		Cosmopterigidae	Myrsinaceae, Fabaceae, Tamariaceae, Polygonaceae, Rhamnaceae, Poaceae, Rosaceae
		Coleophoridae	Melastomataceae
	Thyridoidea	Thyrididae	Apocyanaceae, Polygoniaceae, Malvaceae
	Tortricoidea	Tortricidae	Fabaceae, Polygalaceae, Asteraceae

Aparentemente os únicos a beneficiar com as galhas são os seus indutores. No entanto, para a planta poderá existir uma vantagem em confinar o consumo pelo organismo a uma zona circunscrita. Todavia, para infestações elevadas por estes organismos as plantas

podem apresentar um abrandamento no seu desenvolvimento, devido a estragos como a desfolha. De facto, na formação das galhas os nutrientes produzidos pelas plantas são conduzidos para estas estruturas, que funcionam como “sinks”, bloqueando o normal fluxo para as folhas, o que pode levar à sua seca e posterior queda.

Os principais insectos indutores de galhas pertencem às ordens Diptera (família Cecidomyiidae), Hymenoptera (superfamílias Cynipoidea e Chalcidoidea) e Hemiptera (famílias Psyllidae e Adelgidae). As famílias Cecidomyiidae e Cynipidae compreendem os indutores de galhas mais conhecidos na região Paleártica em espécies arbóreas, em particular afectando Quercíneas. Já os indutores de galhas em resinosas, géneros *Picea* e *Pseudotsuga*, pertencem à família Adelgidae.

Relativamente a *Eucalyptus* sp., na sua região de origem são conhecidas muitas espécies de invertebrados galícolas a que estas espécies estão sujeitas (Austin *et al.*, 2004; Lamb, 1960), verificando-se uma relação entre a diversidade de insectos galícolas associada a uma dada espécie e a dimensão da sua área de distribuição geográfica (Blanche & Westoby, 1996). A família Eulophidae (superfamília Chalcidoidea) assume para estas espécies hospedeiras um interesse particular enquanto espécies galícolas. Para além dos eulofídeos, como *Quadrastichodella* sp. Girault e *Rhichnopeltella eucalypti* Gah., é de assinalar algumas cochonilhas (Hemiptera: Eriococcidae), como *Apiomorpha* sp. Rubsaamen e *Opisthoscelis* sp. Schrader, a psila *Glycaspis brimblecombei* Moore (Hemiptera: Psyllidae) e os dípteros *Eocincticornia* sp. Felt., *Eucalyptodiplosis* sp. Kolesik, *Okriomyia* sp. Kolesik (Diptera: Cecidomyiidae) e *Fergusonina syzygii* Harris (Diptera: Fergusoninidae).

Em Portugal, este tipo de formações era inexistente nos eucaliptos até um período recente em que foram reportadas pela primeira vez no nosso país duas espécies de eulofídeos a causar este tipo de estrago, *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli*.

Fora da sua área de distribuição natural, estas espécies poderão proliferar com rapidez e intensidade, devido à falta de inimigos naturais, e tornar-se prejudiciais tanto às plantas, dado que desfolhas intensas poderão conduzir à redução do seu desenvolvimento e até morte (Mendel *et al.*, 2004) como à saúde pública, devido à irritação causada pelos adultos em voo quando a sua densidade é elevada (Protasov *et al.*, 2006; Protasov *et al.*, 2007b).

As duas espécies de eulofídeos são indicadas como afectando sobretudo espécies de eucaliptos das secções Exsertaria, Latoangulata e Maidenaria, em particular *E. camaldulensis* e *E. tereticornis* (Mendel *et al.*, 2004; Protasov *et al.*, 2007b).

### 1.3. Biologia, distribuição e estragos de *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli*

*Leptocybe invasa* é um pequeno insecto originário da Austrália, descoberto em 2000 pela primeira vez no Médio Oriente (Mendel *et al.*, 2004). Esta espécie tem uma grande capacidade de expansão tendo-se espalhado rapidamente por todo o médio Oriente e também em países da Ásia, África e Europa, em torno da bacia Mediterrânica (Mendel *et al.*, 2004; OEPP, 2006c). Esta espécie pertence à subfamília Tetrastichinae, família Eulophidae, superfamília Chalcidoidea. Actualmente, é a única espécie conhecida pertencente ao género *Leptocybe*. O insecto pode produzir duas ou três gerações sobrepostas anualmente, originando tipicamente galhas semelhantes a um inchaço na nervura principal das folhas, nos pecíolos e/ou em raminhos novos (Durand, 2007; Mendel *et al.*, 2004; OEPP, 2006c). Até ao momento apenas foram observadas fêmeas (Mendel *et al.*, 2004) que se reproduzem por partenogénese, em telitoquia. Após a emergência as fêmeas voam directamente para a planta hospedeira e inserem os ovos na epiderme, na página superior de folhas recentemente desenvolvidas (1-2 semanas após a saída dos rebentos) em ambos os lados da nervura, ou no pecíolo das folhas ou no parênquima dos raminhos recém formados (Mendel *et al.*, 2004; Mendel *et al.*, 2007; Protasov *et al.*, 2007b). As posturas ocorrem de Abril a Outubro, sendo o ciclo de desenvolvimento mais lento durante o Inverno.



**Fig.1:** *Leptocybe invasa* Fisher & LaSalle, indivíduo adulto (Foto: [www.kkl.org.il/.../pwasp2.jpg](http://www.kkl.org.il/.../pwasp2.jpg), Z. Mendel).

Os estragos provocados por esta espécie são notórios em todas as regiões onde se cultiva o eucalipto e onde esta espécie invasora se introduziu, sobretudo em plantações jovens e viveiros (OEPP, 2006c). No caso de grandes infestações, os estragos consistem em deformações nas folhas e rebentos bem como uma redução do crescimento da árvore (OEPP, 2006c). Em Israel, onde foram feitos trabalhos de monitorização em *L. invasa*, observou-se que o insecto atinge níveis epidémicos e as plantas jovens frequentemente morrem devido à quantidade excessiva de ovos postos (Mendel *et al.*, 2004).





**Fig.2:** Galhas de *Leptocybe invasa* formadas na nervura principal da folha de um híbrido de *Eucalyptus* sp..  
Recolha em Pegões (Foto: Autora).



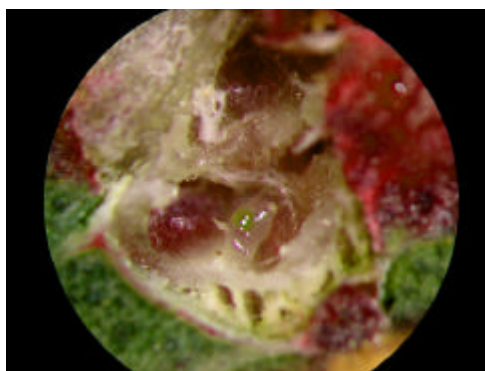
**Fig.3:** Galhas de *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* em diversos locais da planta, num povoamento de híbridos de *Eucalyptus* sp. em Israel (Foto: [www.kkl.org.il/.../ptzira2.jpg](http://www.kkl.org.il/.../ptzira2.jpg)).

Um segundo insecto indutor de galhas, *Ophelimus maskelli* Ashmead, tem seguido de muito próximo *Leptocybe invasa*. A espécie pertence também à subfamília Eulophinae, família Eulophidae, superfamília Chalcidoidea. Em Itália foi identificado erradamente como *Ophelimus eucalypti* Gahan (Laudonia & Viggiani, 2003; Protasov *et al.*, 2006; Viggiani & Nicotina, 2001, Viggiani *et al.*, 2002) e no Egipto como *Aprostocetus* (Doganlar & Mendel, 2007). No género *Ophelimus* são conhecidas muitas espécies indutoras de galhas em *Eucalyptus* spp. distribuídas pela sua região de origem, a Austrália (Protasov *et al.*, 2006) e, também, na Nova Zelândia, onde foram introduzidas acidentalmente (Boucek, 1988 *in* Laudonia & Viggiani, 2003). Tal como a anterior, esta espécie está a espalhar-se rapidamente pelo médio Oriente e em países Europeus mediterrâneos, onde foi descoberta

em 1999 (Arzone & Alma 2000, Viggiani & Nicotina 2001). Apareceu em Israel em 2003 (Protasov *et al.*, 2007b). Em Portugal esta espécie foi registada pela primeira vez em 2006, próxima do litoral, tendo sido observada em 2008 em várias localidades ao longo da costa, desde o Algarve até às Caldas da Rainha, e nas regiões do Algarve e Alentejo no interior junto à fronteira (Branco *et al.*, 2009). Dado que esta espécie foi detectada na Andaluzia em 2003 (OEPP, 2006a), é provável que a sua introdução em Portugal se tenha dado a partir do Sul de Espanha. Esta espécie produz pequenas galhas em forma de pústulas foliares que podem ocupar toda a folha (Laudonia & Viggiani, 2003), desenvolvendo-se tendencialmente no limbo das folhas em desenvolvimento (Protasov *et al.*, 2007b) da copa inferior. A cor típica da galha aparece assim que se desenvolvem as larvas de 3º instar; se as folhas estiverem ensombradas permanecem verdes ou verde-amareladas mas se estiverem expostas ao sol ficam avermelhadas. Em Israel observou-se a produção de três gerações por ano (Protasov *et al.*, 2006; Protasov *et al.*, 2007b), registando-se o pico de voo nas gerações de Primavera, ou seja, quando há muitas folhas jovens disponíveis.



**Fig.4:** *Ophelimus maskelli*, indivíduo adulto (Foto: [www.cienciahoje.pt/files/22/22833.jpg](http://www.cienciahoje.pt/files/22/22833.jpg), Z. Mendel).



**Fig.5:** Larva de *Ophelimus maskelli* no interior de uma galha. Foto: [imagenes.infojardin.com/.../arx1194870539e.jpg](http://imagenes.infojardin.com/.../arx1194870539e.jpg).

Os estragos causados por esta espécie consistem na descoloração da copa (Protasov *et al.*, 2006) e queda prematura das folhas (Protasov *et al.* 2007b), evidentes quando se verifica a formação de um elevado número de galhas. Em regiões altamente infestadas e durante os picos de emergência, os insectos adultos podem causar sérios problemas às plantações e à

saúde pública, devido ao intenso número de indivíduos em voo (Protasov *et al.* 2007b; Protasov *et al.*, 2006), contudo estes estragos são mais relevantes em viveiros e nas espécies ornamentais (Laudonia & Viggiani, 2003; OEPP, 2006b).



**Fig.6 e Fig.7:** Ataques de *Ophelimus maskelli* em diferentes espécies de *Eucalyptus* sp. (Foto: [photos.eppo.org/.../Ophelimus\\_maskelli\\_01.jpg](https://photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_01.jpg) e [.../Ophelimus\\_maskelli\\_06.jpg](https://photos.eppo.org/.../Ophelimus_maskelli_06.jpg), F. Aytar).

#### 1.4. Meios de controlo

Para a generalidade dos insectos prejudiciais aos eucaliptos, acidentalmente introduzidos nos países onde estas espécies se cultivam, o controlo químico não é uma opção sustentável, devido aos impactes ambientais destes produtos e à necessidade de contínuas aplicações. Frequentemente o controlo químico não é, sequer, uma solução economicamente viável, devido à sua ineficácia e ao custo desta operação. Dado que o factor mais importante à dinâmica das populações destes fitófagos, nas regiões onde foram introduzidos, é a ausência de inimigos naturais, uma vez que se encontram afastadas do complexo de agentes bióticos a que estão sujeitas no seu ambiente natural, a luta biológica clássica tem sido a solução mais promissora e sustentável a longo prazo. De facto, o sucesso no controlo das pragas dos eucaliptos tem sido, em larga escala, obtido com projectos de luta biológica clássica, do qual o exemplo mais conhecido é o da introdução do parasitóide ófago *Anaphes nitens* (Hymenoptera: Mymaridae) introduzido em várias regiões do globo para o controlo do gorgulho do eucalipto, *Gonipterus scutellatus* (e.g. Hanks *et al.*, 2000; Loch, 2008; Protasov *et al.*, 2007b; Sanches, 2000). No entanto, registam-se com frequência, casos de insucesso na luta biológica. Este insucesso pode ser devido ao facto do sucesso de sobrevivência e da taxa de propagação dos inimigos naturais introduzidos serem reduzidos na nova área geográfica, ou à escassez de conhecimentos científicos e tecnológicos sobre as espécies e o modo como proceder à sua introdução (Gao & Li, 2006).

Por outro lado, a introdução de inimigos naturais num novo local pode muitas vezes ser considerada um risco ecológico.

*Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* são duas espécies invasoras nos países do mediterrâneo observando-se o rápido e intenso crescimento das suas populações, cujo sucesso, à semelhança de outras pragas dos eucaliptos, poderá dever-se à falta de inimigos naturais nas regiões invadidas, bem como à abundância de plantas hospedeiras (Mendel *et al.*, 2007; Protasov *et al.*, 2007b). No seu local de origem, estas espécies apresentam inimigos naturais que podem restringir o seu crescimento e propagação a uma determinada extensão (Gao & Li, 2006).

Estudos efectuados na Austrália permitiram encontrar diferentes inimigos naturais, em particular de espécies parasitóides de *Ophelimus maskelli*, entre os quais duas espécies do género *Stethynium* sp. (Mymaridae) (Huber *et al.*, 2006), *Neochrysocharis* sp. (Eulophidae) (Mendel *et al.*, 2005) e *Closterocerus chamaeleon* Girault (Hymenoptera: Eulophidae: Entedontinae), este último o mais recente (Laudonia *et al.*, 2006a). *Closterocerus chamaeleon* Girault já foi introduzido em Israel (em projectos de luta biológica) e a sua actividade durante o Inverno, quando o desenvolvimento do hospedeiro está praticamente parado, aparenta ser factor importante para que seja um agente eficiente. De facto este parasitóide diminui a densidade populacional da praga em alguns locais após menos de um ano desde a sua libertação (Protasov *et al.*, 2006). Verificou-se ainda que este parasitóide não ataca outros insectos, como sejam mineiras (isto é, que fazem galerias no interior do limbo das folhas), nem os seus parasitóides, nem a *Leptocybe invasa* (Protasov *et al.*, 2007a). Na Europa, *C. chamaeleon* foi introduzido em Itália em 2006 (Laudonia *et al.*, 2006a; 2006b), tendo a espécie sido observada em Portugal em 2007 (Branco *et al.*, 2009). Relativamente a *Leptocybe invasa*, actualmente não existem meios de luta biológica disponíveis mas existem já vários parasitóides em estudo (OEPP, 2006c).

A par da luta biológica, a luta genética é outra via promissora para a redução dos níveis de estragos induzidos pelas pragas invasoras, tais como as do eucalipto.

A luta genética consiste na criação de variedades resistentes/tolerantes aos inimigos das plantas (Amaro & Baggiolini, 1982). Esta característica de resistência/tolerância é hereditária mas, no entanto, é específica para um dado organismo, podendo a planta vir a ser atacada por outros organismos aos quais é susceptível (Held, 2004). São alguns exemplos deste tipo de combate aos agentes nocivos dos eucaliptos, o uso de variedades resistentes a *Phoracantha semipunctata* em algumas localidades de Portugal (Borrinho *et al.*, 2007), estando ainda a decorrer estudos sobre a resistência a *Mycosphaerella* sp. (Dungey *et al.*, 1997; Milgate *et al.*, 2005), *Gonipterus scutellatus* (Potts *et al.*, 2004) e *Mnesampela* sp. (Dungey *et al.*, 2000; Jones *et al.*, 2002).

No presente estudo, ao determinar diferenças de susceptibilidade de diferentes materiais genéticos a estas vespas, pretende-se contribuir com conhecimentos que possam ter aplicação no controlo das populações destes insectos através da luta genética. Posteriores estudos deverão ser conduzidos para avaliar a viabilidade de clones resistentes simultaneamente a *O. maskelli* e *L. invasa*.

### 1.5. Espécies hospedeiras e susceptibilidade

Ambas as espécies em estudo, *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* afectam várias plantas do género *Eucalyptus*. No seu ambiente natural, as duas espécies ocorrem em *Eucalyptus camaldulensis*, podendo ser encontrados em simultâneo nos mesmos indivíduos e até na mesma folha (Protasov *et al.*, 2007b). São conhecidas catorze espécies consideradas hospedeiras de ambas as espécies, pertencentes às secções Exsertaria, Latoangulata e Maidenaria (ANEXO 1, Quadro 1 e Quadro 2): *E. camaldulensis*, *E. tereticornis*, *E. botryoides*, *E. bridgesiana*, *E. cinerea*, *E. globulus*, *E. grandis*, *E. gunii*, *E. nicholii*, *E. pulverulenta*, *E. robusta*, *E. rudis*, *E. saligna* e *E. viminalis* (Mendel *et al.*, 2004; Protasov *et al.*, 2007b).

No entanto, *E. camaldulensis* e *E. tereticornis* são espécies mais susceptíveis ao ataque por *Ophelimus maskelli* que *E. grandis* ou *E. globulus*. O estudo de Protasov *et al.* (2007b) revelou que de quatro híbridos expostos a *Ophelimus maskelli* numa estufa, o insecto se desenvolveu com maior sucesso em *E. grandis* x *E. camaldulensis* e *E. trabuti*.

A escolha das plantas pelos insectos está, por sua vez, dependente de factores relativos ao indivíduo e à sua fisiologia, como o diâmetro do tronco e a altura, directamente relacionados com a idade e vigor da planta (Mittempergher & Raddi, 1975), a composição química (Jactel *et al.*, 1996a; Jactel *et al.*, 1996b; Jactel *et al.*, 1997; McClure, 1980; Wingfield & Swart, 1994; Ylioja *et al.*, 2000; Zas *et al.*, 2005) e as condições ambientais (Hathaway & Penny, 1975; Jactel *et al.*, 1997; Rousi *et al.*, 1997; Wingfield & Swart, 1994; Ylioja *et al.*, 2000).

A variação genética na resistência aos insectos ocorre entre sub-géneros (Stone *et al.*, 1998), espécies (Morrow & Fox, 1980), proveniências (Dutkowski & Potts, 1999; Farrow *et al.*, 1994), famílias (Floyd & Raymond, 1999; Jones & Potts, 2000; Jones *et al.*, 2002; Raymond, 1995) e ainda dentro de indivíduos (Edwards *et al.*, 2000). Esta variação de susceptibilidade também foi observada para espécies de eucaliptos em relação a mamíferos marsupiais (Batish *et al.*, 2008; O'Reilly-Wapstra *et al.*, 2002).

A resistência das plantas às pragas pode ser hereditária e observada tanto em espécies puras como num complexo de hibridação (Bailey *et al.*, 2006). No caso da maioria das espécies indutoras de galhas verifica-se que a susceptibilidade demonstrada pelas plantas

híbridas se assemelha à do progenitor mais susceptível (Morrow *et al.*, 1994). De acordo com esta teoria os híbridos são menos resistentes que os seus progenitores individualmente (Highsmith *et al.*, 2001). Este mecanismo, isto é, de os híbridos poderem ser menos resistentes que os progenitores, pode ser justificado pelo facto dos genes responsáveis pela resistência serem recessivos, ou co-dominantes, devido a mecanismos de activação de genes que induzam a interrupção de determinados genes associados à resistência quando em hibridação (Whitham, 1999), de efeitos da interproveniência híbrida (Harfouche & Kremer, 2000), de progenitores inerentemente susceptíveis ou mesmo da ausência de adição de resistência na sua base genética (Swart *et al.*, 1996), logo, o uso deste tipo de plantas para produção comercial deverá ter em consideração a sua susceptibilidade, sendo de preferir os cruzamentos com plantas progenitoras resistentes (Hodge & Dvorak, 2000). Geneticamente a resistência pode ser obtida se a conservação da variabilidade dos genes fizer parte de um programa de produção, caso contrário os insectos e outros agentes patogénicos podem adaptar-se à resistência das árvores, o que pode suceder numa escala temporal relativamente curta, devido aos seus curtos ciclos de geração.

A técnica NIRS (Near-Infrared Spectroscopy) é rápida e não-destrutiva e, exige muito pouca preparação de amostras. Estas características permitem o seu uso em muitas aplicações, como seja a análise quantitativa da composição química de alimentos para animais e consumo humano, de produtos farmacêuticos e vários produtos de aplicação tecnológica (He *et al.*, 2006; Rodrigues *et al.*, 2005). A região da luz infra-vermelha próxima (NIR) cobre o intervalo de cerca de  $4000-14000\text{cm}^{-1}$  ( $2.5-0.7\mu\text{m}$ ), localizada justamente acima da luz visível. O espectro NIR consiste sobretudo de sobreposições de tons e combinações de bandas de elasticidade das vibrações fundamentais de grupos funcionais O-H, N-H e C-H. Moléculas orgânicas, como as proteínas ou os lípidos, possuem ligações químicas capazes de absorver a luz deste intervalo espectral. O espectro NIR contém, portanto, informação química acerca da amostra, providenciando a sua impressão digital química.

As suas aplicações incluem estudos das propriedades da madeira de *Eucalyptus delegatensis*, *E. globulus* (Raymond *et al.*, 2001; Schimleck *et al.*, 1999), *E. nitens* (Raymond *et al.*, 2001) e *E. camaldulensis* (Terdwongworakul, 2005), porém são escassos os relatos de folhas analisadas por esta técnica. Apesar deste facto, recorreu-se a esta técnica para averiguar se a assinatura química de folhas de *E. globulus* está associada à resistência, permitindo detectar grupos de génotipos resistentes e susceptíveis a *L. invasa*.



## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Locais e material vegetal amostrados

O trabalho de campo decorreu predominantemente na propriedade do RAÍZ – Herdade da Espirra, próxima da localidade de Pegões (Fig. 8). Nesta propriedade procedeu-se à amostragem de dois parques de material vegetal, um parque de híbridos de *Eucalyptus* sp. e um parque de famílias de *Eucalyptus globulus*, pretendendo-se determinar diferenças de susceptibilidade entre híbridos e entre genótipos da mesma espécie, respectivamente.



**Fig.8:** Localização da área de estudo. a) Parque de *Eucalyptus globulus*, b) Parque de híbridos, c) Clones de *Eucalyptus globulus* identificados como resistentes e susceptíveis.

Para as famílias de *Eucalyptus globulus*, procurou-se ainda localizar no campo plantações de descendentes, ou clones, de genótipos previamente observadas como sendo resistentes ou susceptíveis, com o objectivo de confirmar a hereditariedade daquela característica. Todavia, só foi possível localizar no campo uma plantação de ensaio de clones descendentes do cruzamento de duas famílias. Este ensaio tem o código MG298 e conta com 16 plantas de origem seminal resultantes de dois cruzamentos de duas famílias, consideradas pela amostragem anterior como resistentes a *L. invasa* (Quadro 2). Este ensaio foi instalado no dia 11 de Março de 2008 na Tojeira, no concelho de Ponte de Sôr, freguesia de Longomel. Fez-se a amostragem no dia 16 de Maio de 2008.

## **2.2. Amostragem de híbridos de *Eucalyptus* sp.**

Para a análise da susceptibilidade de diferentes híbridos de *Eucalyptus* sp. a *L. invasa* e *O. maskelli* foram seleccionadas 3 árvores de cada um dos 37 genótipos presentes no parque de híbridos da Herdade da Espirra, resultantes de 24 cruzamentos de espécies de eucaliptos (ANEXO 2, Quadro 1). Em nove dos híbridos, um dos progenitores era *Eucalyptus globulus*. No caso dos genótipos tipos H.532.01 e H.546.16 apenas se seleccionaram duas árvores, por serem as únicas disponíveis.

Em 21 de Fevereiro de 2008 foram recolhidos ramos das árvores seleccionadas dos eucaliptos híbridos. De cada uma das árvores foram recolhidos 5 ramos aleatoriamente, com cerca de 50 cm cada, dos estratos médio e inferior da copa. Não se amostrou o estrato superior da copa por apresentar ramos muito jovens sem galhas desenvolvidas. Os ramos foram cortados com recurso a tesoura de poda e colocados em sacos plásticos de cristal, devidamente identificados por genótipo e árvore. A posterior avaliação da presença de galhas formadas por *L. invasa* e *O. maskelli*, e estimativa da percentagem de ataque pelas duas espécies de insectos em estudo, foi efectuada em laboratório nos dias imediatamente posteriores à recolha.

A presença de galhas de ambas as espécies foi registada com recurso a classes de ataque. Para *Leptocybe invasa*: 0) sem galhas, 1) 1-10 galhas/folha, 2) mais de 10 galhas/folha. Para *Ophelimus maskelli*: 0) sem galhas, 1) 1-40 galhas/folha, 2) mais de 40 galhas/folha. No caso de folhas atacadas com *Leptocybe invasa* indicou-se ainda o local onde se formou a galha (entrenó, pecíolo e/ou folha).

## **2.3. Amostragem de diferentes famílias de *Eucalyptus globulus***

De acordo com o nível de susceptibilidade à presença de galhas de *Leptocybe invasa* definido em trabalho anterior por Durand (2007), seleccionaram-se 18 genótipos de *E. globulus* do parque da Herdade da Espirra, procurando-se incluir na amostragem uma grande variabilidade de genótipos, de muito resistentes a susceptíveis. Por outro lado seleccionaram-se genótipos, representados por mais de uma árvore, de modo a obter-se uma estimativa da variabilidade individual. Ao todo seleccionaram-se 32 árvores (ANEXO 3, Quadro 1). Nestas árvores estimou-se a percentagem de ataque por *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* em duas datas distintas, em 13 de Fevereiro e 16 de Maio de 2008.

Em cada data observou-se minuciosamente cada uma das 32 árvores seleccionadas, avaliando-se a presença de galhas de *Leptocybe invasa* e de *Ophelimus maskelli*. Para esta amostragem percorreu-se a árvore no sentido dos ponteiros do relógio escolhendo-se 5



ramos distribuídos por toda a copa. Registou-se o número total de folhas por ramo e o número de folhas com presença de galhas de cada uma das espécies de insectos em estudo, de acordo com classes de ataque e o local onde se formaram as galhas (entrenó, pecíolo e/ou folha), no caso de *Leptocybe invasa*. As escalas utilizadas para as duas espécies foram: 0) sem galhas, 1) 1-10 galhas/folha e 2) mais de 10 galhas/folhas (para *Leptocybe invasa*) e 0) sem galhas, 1) 1-40 galhas/folha e 2) mais de 40 galhas/folha (para *Ophelimus maskelli*).

Para comparação da susceptibilidade das famílias amostradas de *E. globulus* com uma espécie susceptível, usou-se como referência uma outra espécie, reconhecida como sendo muito susceptível a *L. invasa*, *E. tereticornis*, que se encontrava no mesmo parque, a uma distância de cerca de 30m. Desta espécie amostraram-se 2 árvores.

A 16 de Maio de 2008 avaliou-se a percentagem de ataque por *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli* no ensaio de *Eucalyptus globulus* instalado na Tojeira, freguesia de Longomel, concelho de Ponte de Sôr, a 11 de Março de 2008 (Quadro 2).

A 18 de Julho de 2008 foram monitorizadas ainda 43 plantas de *Eucalyptus globulus* dos genótipos indicados na tabela 3 e identificados como resistentes e susceptíveis, mantidos em vasos no exterior nas instalações do RAÍZ da Herdade da Espirra, onde são regados diariamente.

**Quadro 2:** Plantas monitorizadas no ensaio MG298, no concelho de Ponte de Sôr.

Código	Cruzamento	Nº de plantas	Origem
F-2067	100765006 x FN24	11	Seminal
F-2079	100765006 x 100785018	5	Seminal

**Quadro 3:** Genótipos e número de plantas em vaso monitorizadas nas instalações do RAÍZ, com indicação da sua susceptibilidade, determinada em estudo prévio (R- resistente, S- susceptível) (Durand, 2007).

Susceptibilidade	Genótipos	Nº de plantas
R	100785018	5
R	400873	3
R	100785011	21
S	100890020	10
S	100850010	4

Todas as plantas seleccionadas de ambos os locais foram observadas minuciosamente, de modo a registar o número de folhas com presença de galhas, de acordo com as classes de ataque definidas anteriormente bem como o local onde se formaram as galhas (entrenó, pecíolo e/ou folha), no caso de *Leptocybe invasa*.

#### **2.4. Análise de folhas por espectrometria de infra-vermelho próximo (NIRS)**

Com objectivo de determinar se a espectrometria de infra-vermelho próxima (Near-infrared spectrometry) permite diferenciar os genótipos resistentes dos susceptíveis no parque de famílias de *Eucalyptus globulus*, seleccionaram-se 4 genótipos considerados susceptíveis e 4 resistentes. De cada um destes genótipos seleccionaram-se duas árvores (três árvores no genótipo 100891005). De cada árvore recolheu-se 5 folhas adultas não atacadas por *Leptocybe invasa*. De dois genótipos susceptíveis seleccionaram-se duas árvores e recolheram-se de cada uma mais 5 folhas adultas atacadas. A recolha realizou-se no dia 16 de Maio de 2008.

As folhas foram colocadas em sacos plásticos e acondicionadas de imediato em sacos térmicos com acumuladores de gelo até à sua chegada ao laboratório, onde foram mantidas no frigorífico até à realização de espectros para posterior análise do NIRS. Os espectros efectuaram-se com recurso a espectrofotómetro Bruker-Vector 221N associado a um computador com o programa OPUS, em material fresco (operação realizada com a maior brevidade para evitar a perda das características foliares) e no mesmo material após liofilização.

O procedimento consistiu em numerar as folhas recolhidas por árvore e traçar pequenas circunferências com lápis de carvão, indicando o sentido da recolha dos espectros e colocando o laser no centro destas circunferências para registar os espectros. Da primeira folha de cada árvore recolheram-se 8 espectros e das restantes apenas 4, sempre no lado interior da curvatura da folha e na página inferior. Os espectros foram registados com o número da árvore, o número da folha e o código de ataque (0 – folha não atacada, 1 – folha atacada). Posteriormente cortaram-se círculos correspondentes aos locais onde se realizaram anteriormente os espectros, recorrendo a uma sovela de cobre com 0.5cm de diâmetro e sendo colocados em seguida em tubos eppendorf devidamente identificados (com o número da árvore, número da folha e código de ataque), cobertos com parafilme. Colocaram-se então numa câmara de frio para liofilizar durante 48 horas, após as quais se colocaram num excicador até à realização de novos espectros.

A análise foi feita com uma sonda de fibra, sendo o espectro obtido de 10000-5100cm<sup>-1</sup> com uma resolução de 8cm<sup>-1</sup>.

Foram acumulados 480 scans e tiradas as médias (por folha e por árvore, a fresco e após liofilização). De seguida foi-lhes aplicada uma transformação de Fourier. A análise estatística compreende o uso do software OPUS (Brucker, Alemanha) e Unscrambler (CAMO, Norway, V.9 para o Windows). Esta análise foi feita pelo Dr. José Carlos Rodrigues do ICCTI.

## 2.5. Análise dos dados

Para testar a hipótese de que existem diferenças de susceptibilidade das plantas de diferentes materiais genéticos, quer a *L. invasa*, quer a *O. maskelli* usaram-se ANOVAs, antecedidas por análise exploratória de dados para verificar a sua normalidade e igualdade de variâncias. Considerou-se os efeitos dos factores genótipo e da planta individual, hierarquizada dentro de cada genótipo. Como variável dependente considerou-se a percentagem de folhas atacadas por ramo para cada uma das espécies galícolas em estudo. A percentagem de folhas atacadas por ramo entre os diferentes níveis dos factores foi testada pela estatística post-hoc Dunnett's T3, adequada para o caso de não haver igualdade de variâncias entre as amostras, como era o caso. Para os dados dos híbridos, testou-se a hipótese de que os híbridos que tinham como um dos progenitores *E. globulus* e os que tinham progenitores de outras espécies diferiam na sua susceptibilidade. Usando-se um teste t-Student, testou-se ainda a hipótese da percentagem de folhas atacadas nos híbridos por *L. invasa* em 2007 (Durand, 2007) ser semelhante aos valores encontrados nas mesmas plantas em 2008. A análise dos dados foi efectuada com recurso ao programa SPSS (V.16 para Windows).

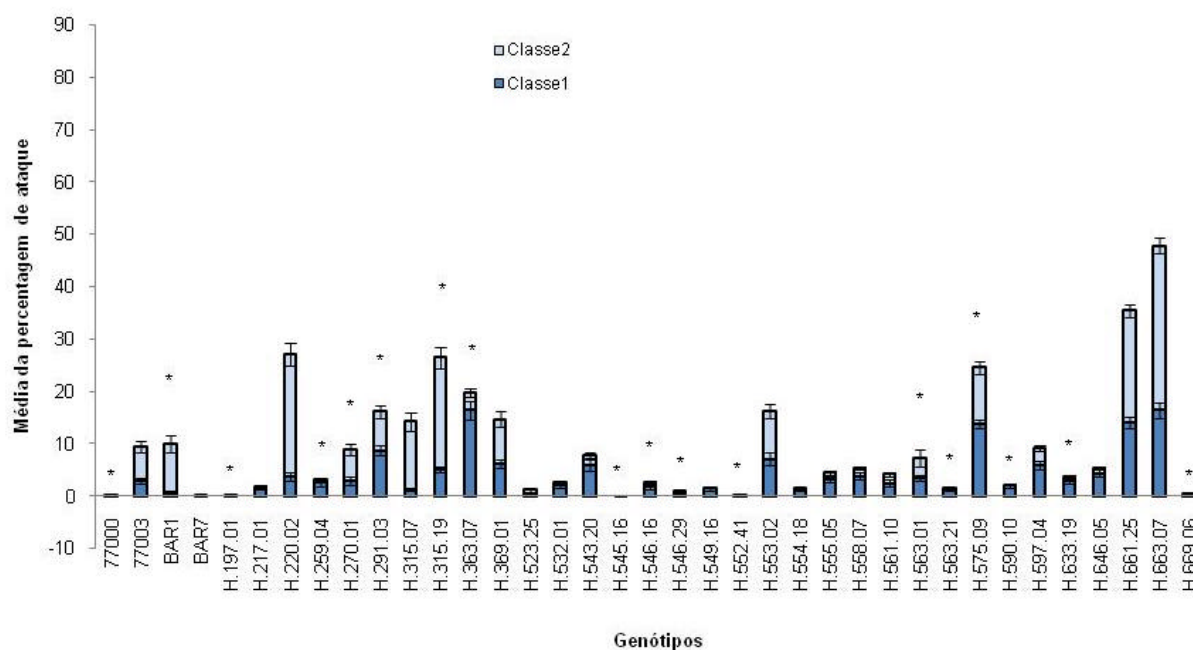
Para testar a hipótese de associação entre as duas espécies galícolas, *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli*, recorreu-se a um teste de qui-quadrado aplicado a uma tabela de contingência de presença e ausência das duas espécies. Estes testes foram feitos a três níveis de distribuição espacial: ao nível da árvore individual, ao nível do ramo e ao nível da folha.

### 3. RESULTADOS

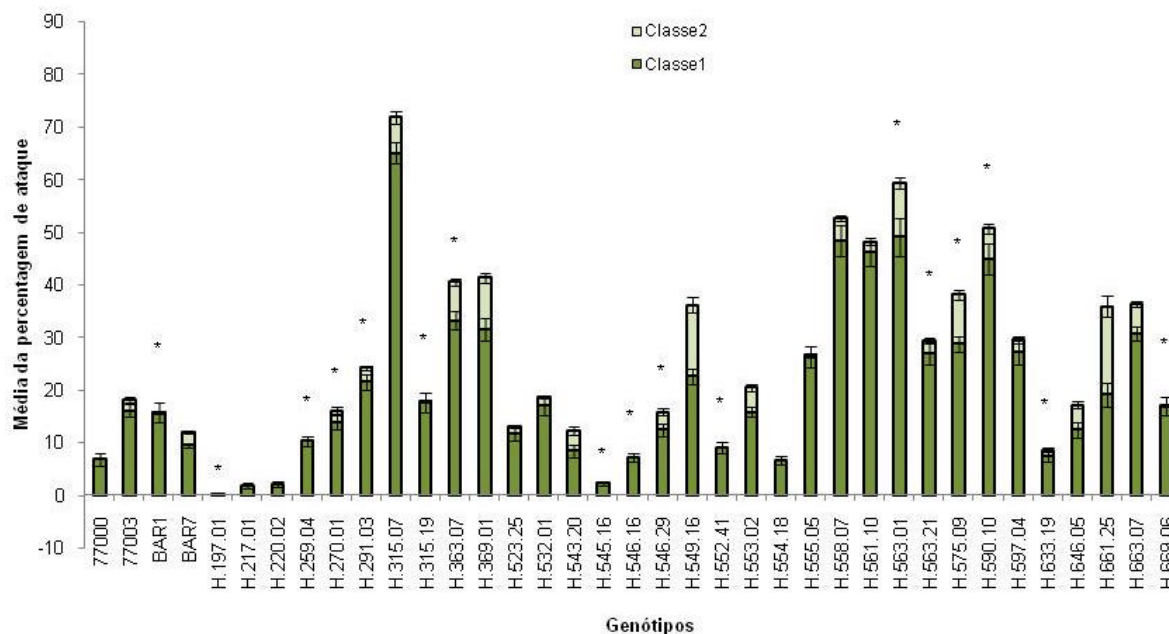
#### 3.1. Susceptibilidade de diferentes híbridos de *Eucalyptus* spp. a *Leptocybe invasa* e a *Ophelymus maskelli*

##### Amostragem de 2008

A percentagem de ataque, somatório das classes 1 e 2, nos diferentes híbridos variou entre 0 e cerca de 50% para *L. invasa* (Fig. 9) e entre 2 e 70% para *O. maskelli* (Fig. 10). Regista-se assim uma variabilidade grande para as duas espécies em função dos híbridos amostrados.



**Fig.9:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) por *Leptocybe invasa* em genótipos híbridos de *Eucalyptus* spp.. Nas classe 1 (nº de galhas/folha < 40) e classe 2 (nº de galhas/folha > 40). Assinalam-se com \* os genótipos que têm um progenitor *Eucalyptus globulus* spp. *globulus*.

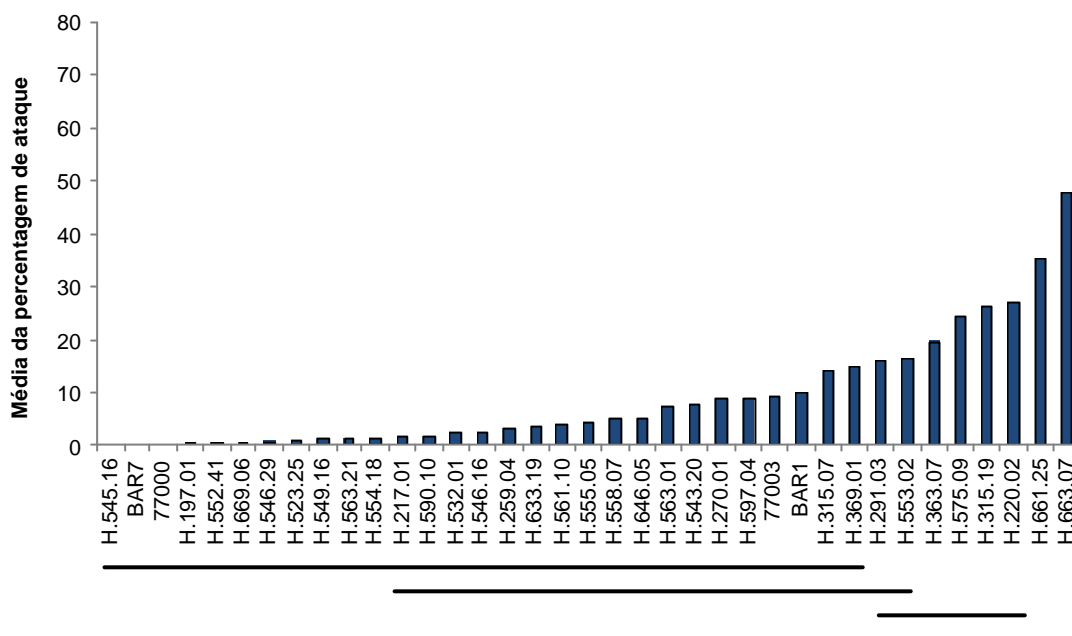


**Fig.10:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) por *Ophelimus maskelli* em genótipos híbridos de *Eucalyptus* spp.. Nas classe 1 ( $n^\circ$  de galhas/folha < 40) e classe 2 ( $n^\circ$  de galhas/folha > 40). Assinalam-se com \* os genótipos que têm um progenitor *Eucalyptus globulus* spp. *globulus*.

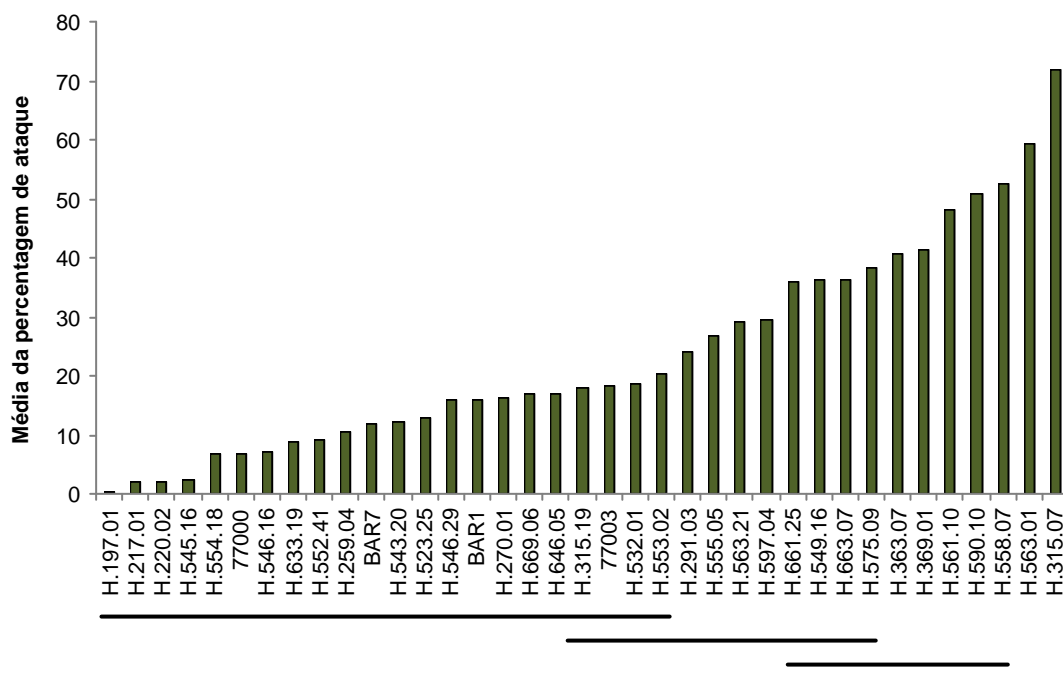
A percentagem de ataque na classe 2 é superior à classe 1 apenas em cerca de 30% dos genótipos, para *L. invasa*. Para *O. maskelli*, a maior parte dos ramos encontravam-se na classe 1 para todos os genótipos monitorizados. Dado que a hipótese de normalidade se verificou para a generalidade dos genótipos, recorreu-se a ANOVAs para determinar diferenças na susceptibilidade às duas espécies.

A ANOVA revelou existir diferenças significativas entre genótipos para o ataque de *L. invasa* ( $F_{36,508}=15.329$ ;  $p<0.001$ ). Constituindo os genótipos H.663.07 (*E. camaldulensis* x *E. trabutii*), H.661.25 (*E. camaldulensis* x *E. botryoides*), H.220.02 (*E. nitens* x *E. trabutii*) e H.315.19 (*E. trabutii* x *E. globulus*) o grupo dos mais susceptíveis (Fig. 11). Em oposição, nos genótipos H.545.16 (*E. grandis* x *E. globulus*), 77000 (*E. grandis* x *E. globulus*), H.552.41 (*E. grandis* x *E. globulus*), H.546.29 (*E. grandis* x *E. globulus*), BAR7 (*E. grandis* x *E. rudis*), H.197.01 (*E. nitens* x *E. globulus*), H.669.06 (*E. ovata* x *E. globulus*), H.523.25 (*E. grandis* x *E. viminalis*), H.549.16 (*E. grandis* x *E. trabutii*), H.563.21 (*E. rudis* x *E. globulus*), H.554.18 (*E. saligna* x *E. botryoides*), observou-se uma susceptibilidade inferior aos restantes, constituindo o grupo dos mais resistentes ( $p=0.077$ ). O mesmo resultado, isto é observação de diferenças significativas entre os híbridos, foi obtido para a percentagem de ataque por *O. maskelli* ( $F_{36,508}=16.704$ ;  $p<0.001$ ). Os genótipos H.315.07 (*E. trabutii* x *E. globulus*) ( $p=1$ ), H.561.10 (*E. rudis* x *E. saligna*), H.590.10 (*E. camaldulensis* x *E. globulus*), H.558.07 (*E. saligna* x *E. trabutii*) e H.563.01 (*E. rudis* x *E. globulus*) ( $p=0.254$ ) foram os

mais susceptíveis, enquanto os genótipos H.197.01 (*E. nitens* x *E. globulus*) e H.217.01 (*E. nitens* x *E. algeriensis*) foram os mais resistentes (Fig. 12). No geral observou-se uma maior percentagem de folhas com galhas de *O. maskelli* do que com galhas de *L. invasa*.



**Fig.11:** Ordenação dos híbridos de *Eucalyptus* sp. de acordo com a sua susceptibilidade a *Leptocybe invasa* . Os híbridos incluídos na mesma barra não diferem entre si estatisticamente ( $\alpha=0.05$ ) (Dunnet's T3).

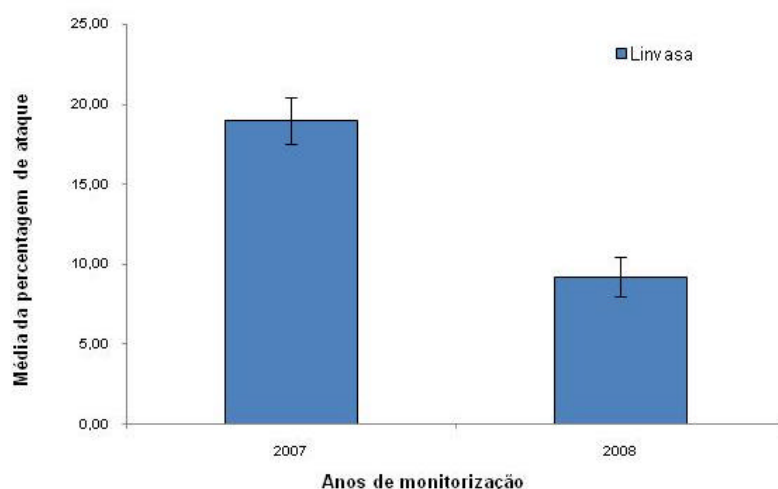


**Fig.12:** Ordenação dos híbridos de *Eucalyptus* sp. de acordo com a sua susceptibilidade a *Ophelimus maskelli* Os híbridos incluídos na mesma barra não diferem entre si estatisticamente ( $\alpha=0.05$ ) (Dunnet's T3).

Pretendendo-se relacionar a percentagem de folhas atacadas por *L. invasa* e por *O. maskelli* com o facto de um dos progenitores ser *E. globulus*, testou-se se existiam diferenças significativas na susceptibilidade dos híbridos em dois grupos, 1) em que um dos progenitores era *E. globulus*, 2) em que dois progenitores pertenciam a outras espécies. Os resultados revelaram não existir diferenças significativas entre estes dois grupos  $F_{1,543}=0.043$  ( $p=0.835$ ) para *O. maskelli*. Conclui-se, portanto, que os híbridos com *E. globulus* têm susceptibilidade média a *O. maskelli* (percentagem média de folhas atacadas =  $23.52 \pm 1.43$ ) semelhante à dos restantes híbridos (percentagem média de folhas atacadas =  $23.94 \pm 1.47$ ). Pelo contrário, observa-se que os híbridos em que um dos progenitores é *E. globulus* têm significativamente uma menor susceptibilidade para *L. invasa* (percentagem média de folhas atacadas =  $7.55 \pm 0.91$ ) que os restantes híbridos (percentagem média de folhas atacadas =  $11.00 \pm 0.93$ ) ( $F_{1,543}=7.058$  ( $p=0.008$ )). A intensidade média de folhas atacadas por *L. invasa* é cerca de 64% inferior nos híbridos em que um dos progenitores é *E. globulus*, comparativamente a outros.

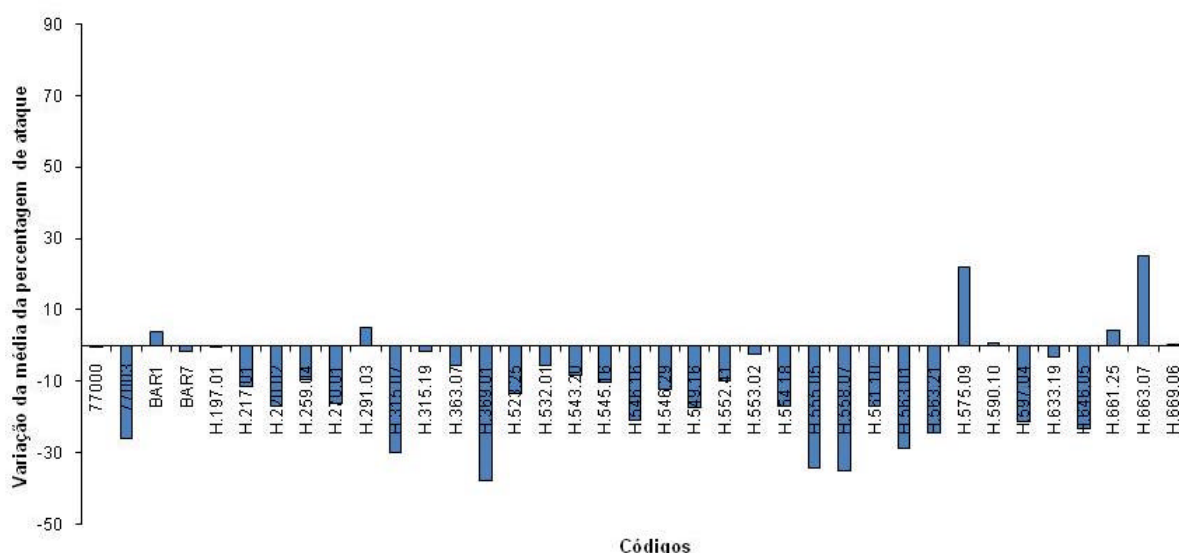
#### *Varição inter-anual*

Existindo dados de 2007 de susceptibilidade a *L. invasa* das mesmas plantas e dos mesmos híbridos, com as mesmas classes de ataque (Durand, 2007), procurou-se analisar a variação inter-anual da percentagem de folhas atacadas por *L. invasa* nos híbridos estudados entre 2007 e 2008, período que coincidiu com a introdução de *O. maskelli* na área em estudo. Verificou-se que a média das folhas atacadas por *L. invasa* (classes 1 e 2), para o conjunto de todas as plantas amostradas, diminui significativamente entre os dois anos amostrados ( $t_{72}=3.622$ ,  $p<0.001$ ) (Fig. 13).



**Fig.13:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) por *Leptocybe invasa* em dois anos de amostragem 2007 e depois, antes e depois da ocorrência de *Ophelimus maskelli* na região, respectivamente.

Quando se observa as variações na percentagem de ataque por *L. invasa* entre os dois anos de estudo para cada um dos híbridos estudados verifica-se que existem diferenças significativas entre híbridos (ANOVA:  $F_{36,36}=2.088$ ,  $p=0.015$ ) (Fig. 14). Em particular, observou-se que para dois dos híbridos estudados, H.575.09 (*E. tereticornis* x *E. globulus*) e H.663.07 (*E. camaldulensis* x *E. trabutii*), registaram-se aumentos de percentagem de ataque em mais de 20%, contrariando a tendência dos restantes híbridos em que a variação é negativa ou próxima de zero. Verifica-se, no entanto, que existe, para o conjunto de todos os híbridos, uma correlação significativa e positiva na percentagem de folhas atacadas por *L. invasa*, entre os dois períodos de amostragem, 2007 e 2008 ( $r=0.362$ ;  $p=0.028$ ) evidenciando que as diferenças de susceptibilidade observadas em 2007 são concordantes com as observadas em 2008.

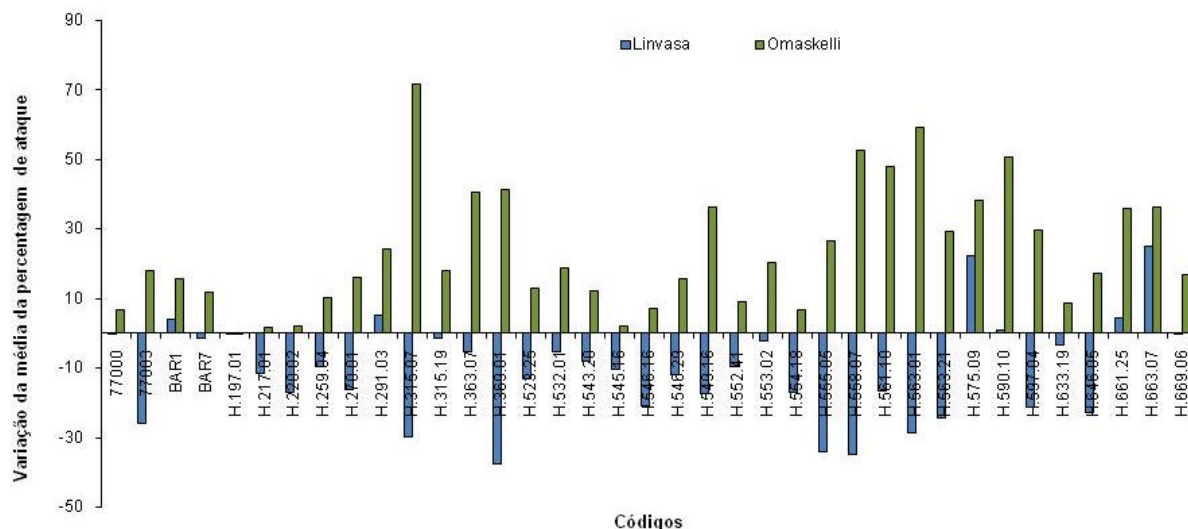


**Fig.14:** Variação na percentagem de ataque por *Leptocybe invasa* em dois anos consecutivos de amostragem, 2007-2008. Parque de Híbridos de RAIZ. Pegões.

Relacionando as variações de ataque de *L. invasa* com a presença de *O. maskelli* em 2008 verifica-se que, com excepção dos dois híbridos acima indicados, para os quais se verificou um aumento de ataque por *L. invasa*, todos os restantes apresentam uma tendência inversa entre a intensidade de ataque por *O. maskelli* e a variação da intensidade de ataque por *L. invasa* (Fig. 15). O coeficiente de correlação, para o conjunto dos híbridos, entre a variação inter-anual de percentagem de ataque por *L. invasa* e a percentagem de ataque em 2008 por *O. maskelli* é negativa, embora não significativa  $r= -0.218$  ( $p=0.194$ ). No entanto, quando se retiram os dois híbridos “outliers” com comportamento diferente (H.575.09 – *E.*



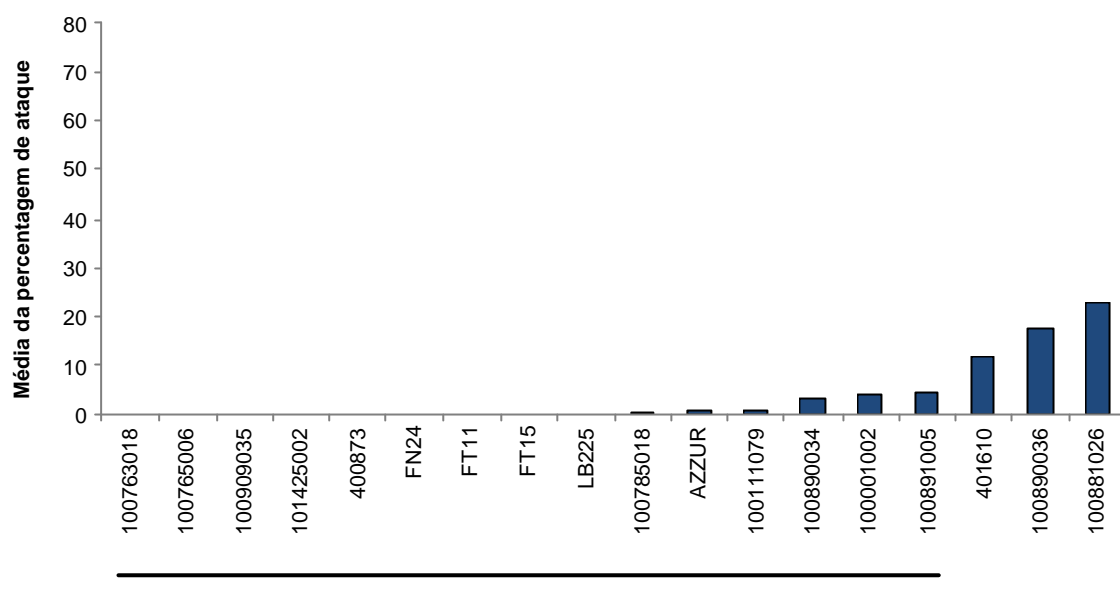
*tereticornis* x *E. globulus* e H.663.07 – *E. camaldulensis* x *E. trabutii*) obtém-se uma correlação negativa significativa entre as duas variáveis  $r = -0.410$  ( $p = 0.014$ ).



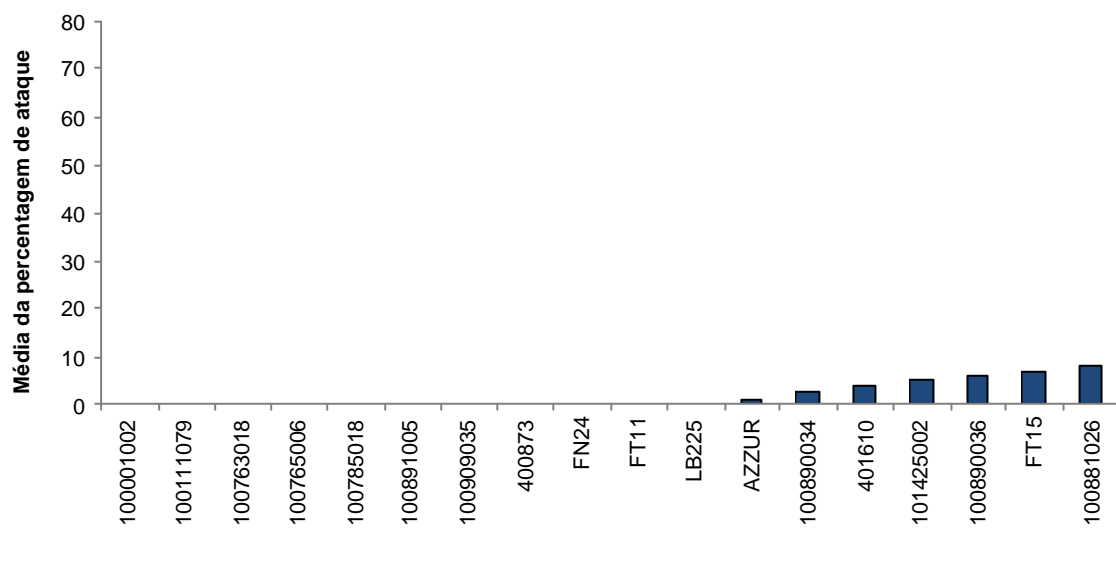
**Fig.15:** Variação na percentagem de ataque por *Leptocybe invasa* em dois anos consecutivos de amostragem, 2007-2008 e percentagem de folhas atacadas por *O. maskelli* em 2008. Pegões.

### 3.2. Susceptibilidade de diferentes famílias de *Eucalyptus globulus* a *Leptocybe invasa*

Na análise da diferença de susceptibilidade ao ataque por *L. invasa*, em diferentes famílias de *E. globulus*, verificou-se que 7 das 18 famílias observadas se mostraram completamente resistentes a esta espécie no conjunto das duas datas observadas, representando, portanto, 40% das famílias amostradas (Fig. 16 e 17). Para as restantes famílias onde se observou a presença de *L. invasa*, a percentagem de folhas atacadas foi em geral reduzida, situando-se abaixo dos 10%. Só se observaram valores superiores para três famílias, 401610, 100881026 e 100890036, na data de Fevereiro, onde os valores foram de 11.4, 22.5 e 17.3, respectivamente. Entre as duas datas de amostragem observou-se uma correlação positiva significativa da percentagem de ataque por *L. invasa* nas várias famílias ( $r = 0.693$ ;  $p = 0.001$ ). Quando analisados estatisticamente os dados observou-se existir diferenças significativas entre famílias de *E. globulus* em ambas as datas de amostragem ( $F_{17,142} = 17.812$ ,  $p < 0.001$ , em Fevereiro e  $F_{17,142} = 2.542$ ,  $p = 0.001$ , em Maio). Na primeira amostragem as famílias 401610, 100890036 e 100881026, tinham valores significativamente superiores às restantes ( $p = 1$ , Teste Post-Hoc Dunnett's T3), enquanto que na segunda amostragem as famílias AZZUR, 100890034, 401610, 101425002, 100890036, FT15 e 100881026, distinguiram-se como as mais susceptíveis ( $p = 0.127$ , Teste Post-Hoc Dunnett's T3).



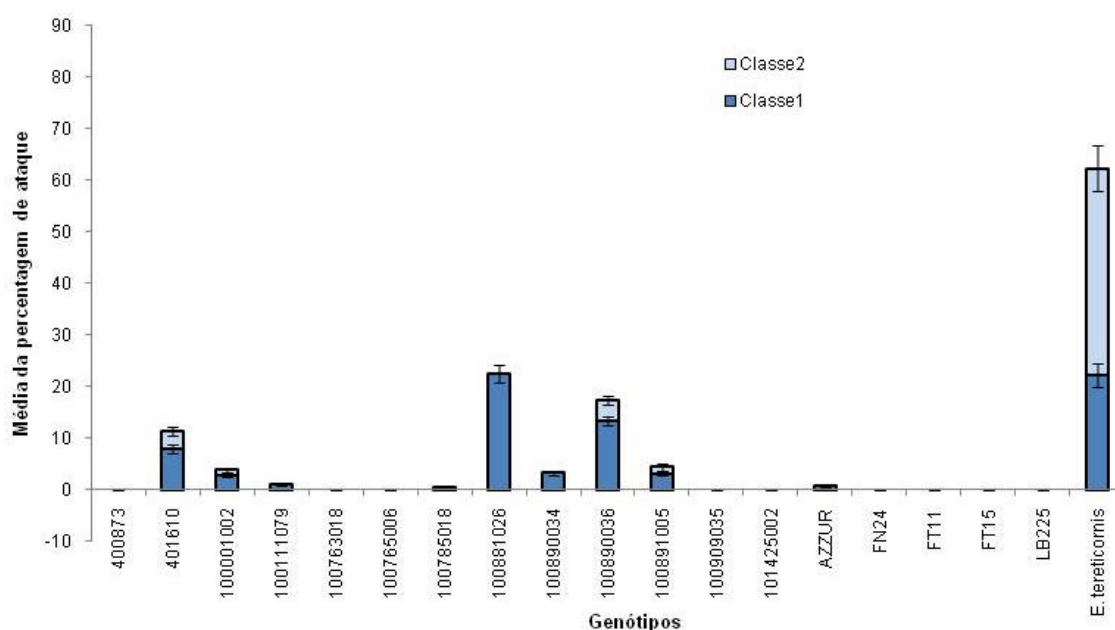
**Fig.16:** Susceptibilidade a *Leptocybe invasa* de famílias de *Eucalyptus globulus* na amostragem de 13 de Fevereiro (de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).



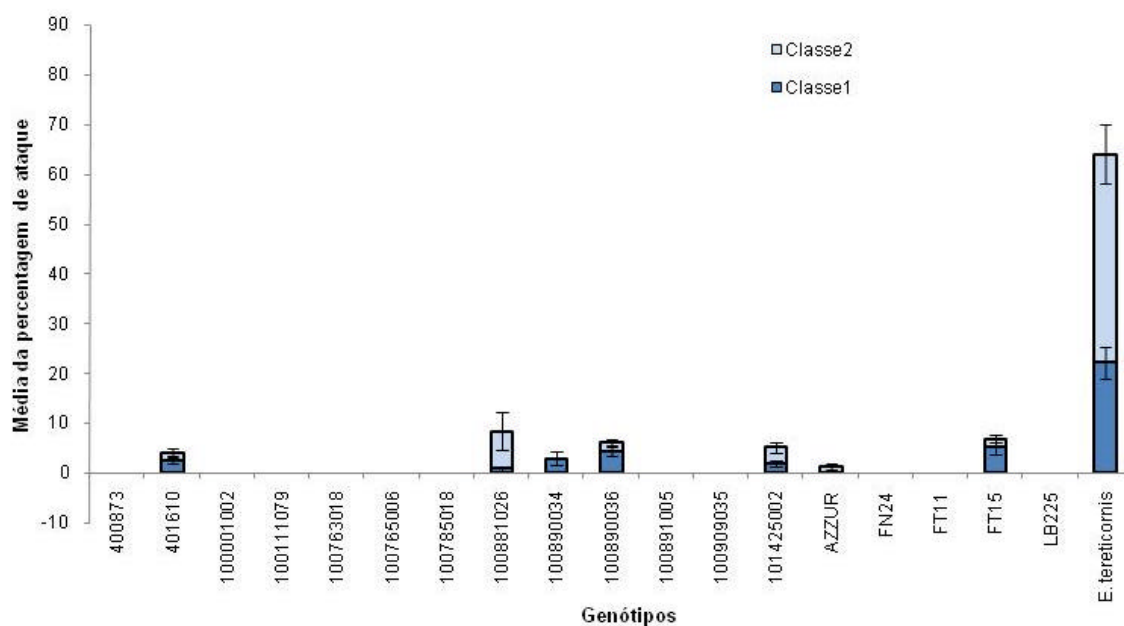
**Fig.17:** Susceptibilidade a *Leptocybe invasa* de famílias de *Eucalyptus globulus* na amostragem de 16 de Maio (de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).

Para comparação da susceptibilidade das famílias amostradas de *E. globulus* com uma espécie susceptível, usou-se como referência uma outra espécie, reconhecida como sendo muito susceptível a *L. invasa*, *E. tereticornis*. Nesta espécie os valores de percentagem de ataque nas duas datas foram, em média, superiores a 60% (Fig. 18). Registraram-se

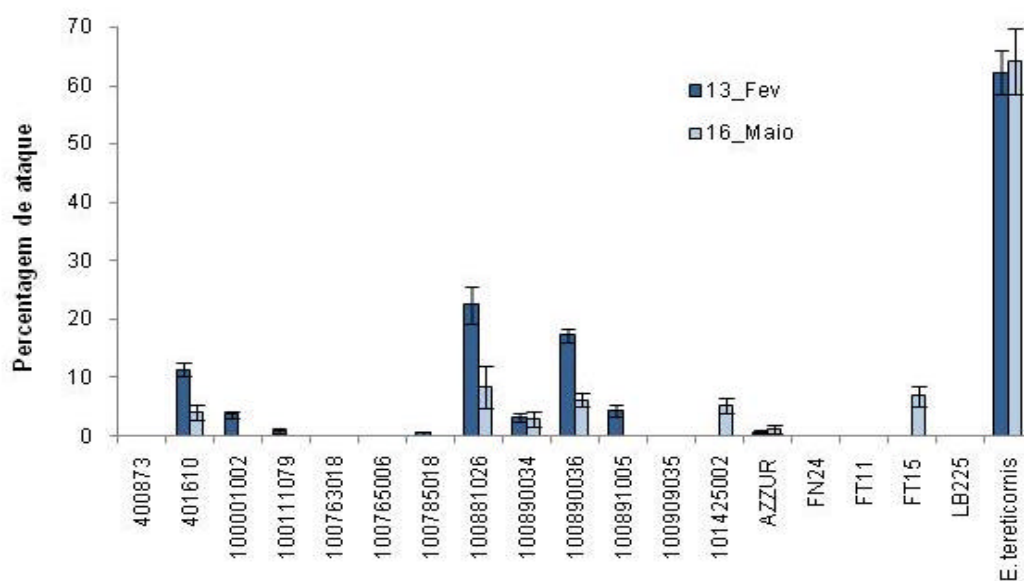
diferenças significativas entre todas as famílias de *E. globulus* amostradas e *E. tereticornis* ( $F_{1,17}=74.279$   $p<0.001$  e  $F_{1,17}=434.523$   $p<0.001$ , para Fevereiro e Maio, respectivamente), Para as duas datas a percentagem de ataque por *L. invasa* na classe 1 é quase sempre superior ou semelhante à classe 2 nas famílias de *E. globulus*, verificando-se o oposto nas plantas de *E. tereticornis*, em que a percentagem de folhas intensamente atacadas (classe 2) é superior à percentagem de folhas menos atacadas (classe 1) (Fig. 18 e 19). De uma data para a outra, isto é entre Fevereiro e Maio, observou-se, em geral uma redução na percentagem de ataque por *L. invasa*, evidente nalgumas famílias de *E. globulus* mas não em todas, em *E. tereticornis* os valores mantiveram-se semelhantes (Fig. 20).



**Fig.18:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) a 13 de Fevereiro de 2008, por *Leptocybe invasa*, em clones de *Eucalyptus globulus*.



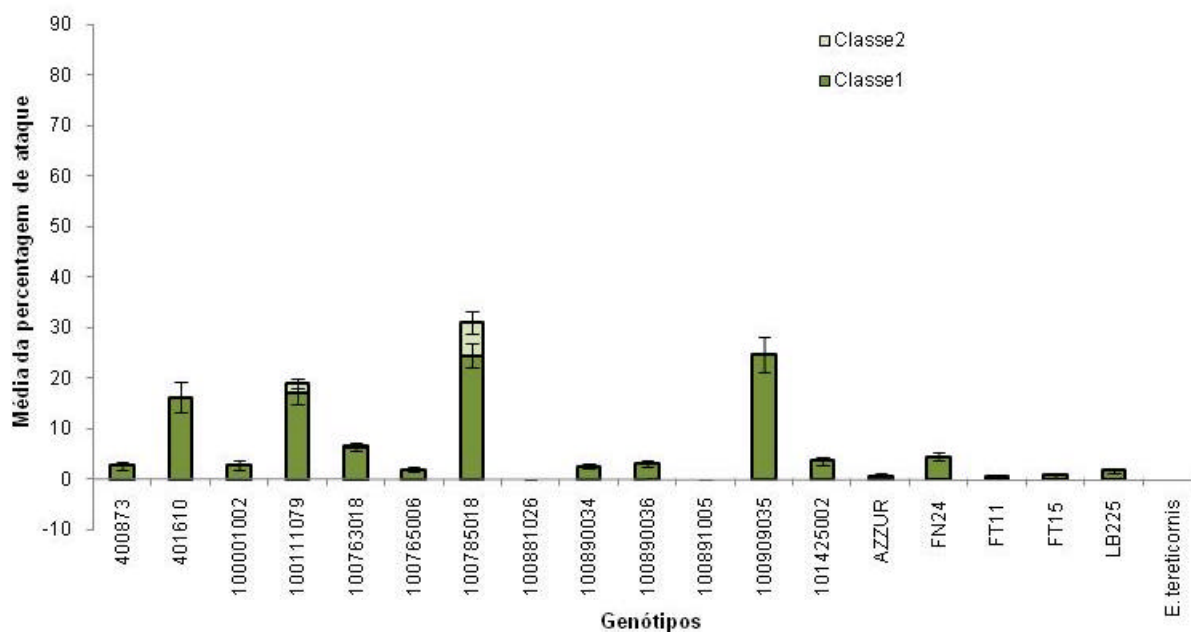
**Fig.19:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) a 16 de Maio de 2008, por *Leptocybe invasa*, em clones de *Eucalyptus globulus*.



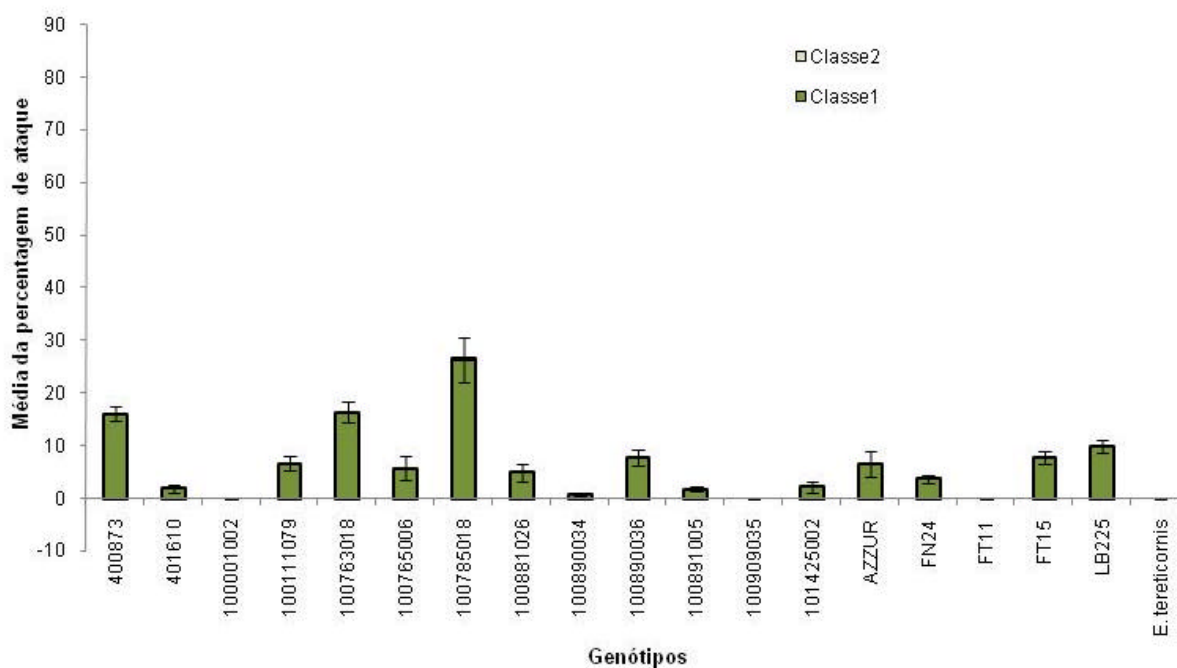
**Fig. 20:** Percentagem de ataque por *L. invasa* (classe 1 e 2) e erro padrão, para ambas as datas de amostragem.

Para *O. maskelli* verificou-se a presença de galhas induzidas por esta espécie em todas as 18 famílias, pelo menos numa das datas amostradas, embora em 4 das famílias só se tenha observado galhas numa das datas (Fig. 23). Por outro lado, em cada data, nas famílias com presença de galhas de *O. maskelli* a percentagem média de folhas atacadas foi muito

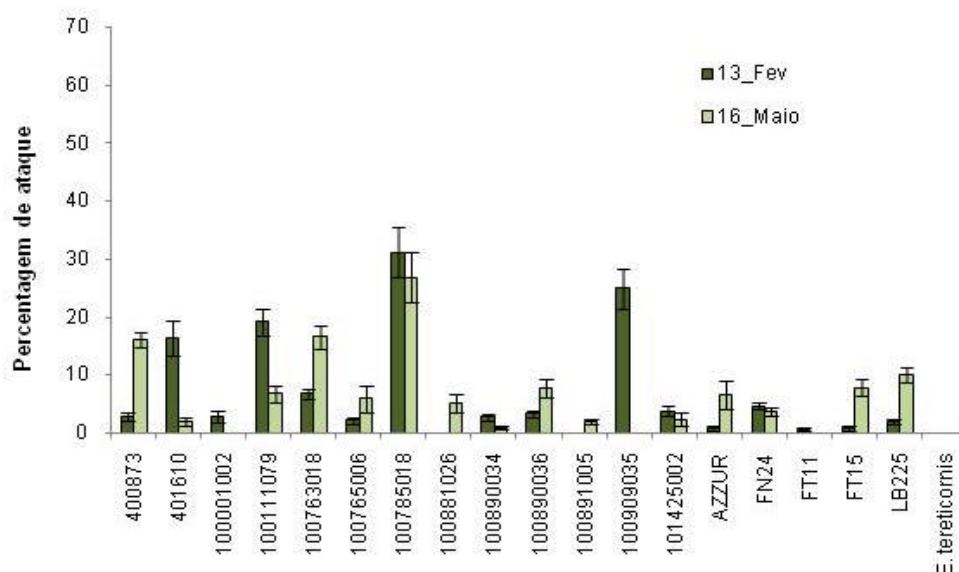
variável, de cerca de 1 a 31%. Para *O. maskelli*, a classe 1 foi dominante (Fig. 21 e 22). Não se observou ataque por *O. maskelli*, nas plantas amostradas de *E. tereticornis* (Fig. 23).



**Fig.21:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) a 13 de Fevereiro de 2008, por *Ophelimus maskelli*, em clones de *Eucalyptus globulus*.

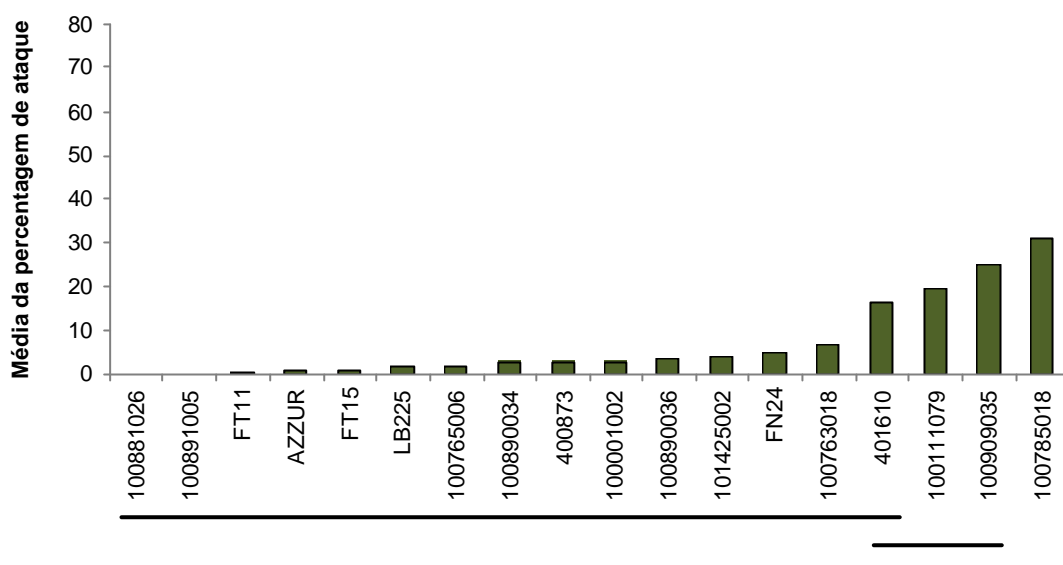


**Fig.22:** Percentagem de ataque ( $\pm$  erro padrão) a 16 de Maio de 2008, por *Ophelimus maskelli*, em clones de *Eucalyptus globulus*.

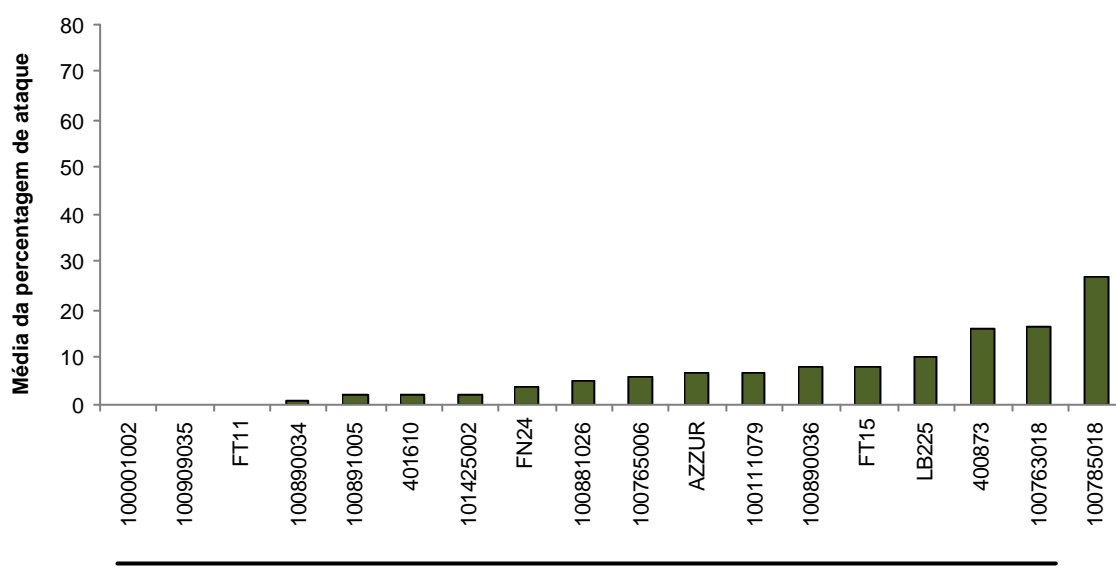


**Fig.23:** Percentagem de ataque por *O. maskelli* (classe 1 e 2 e erro padrão, para ambas as datas de amostragem).

Verificou-se uma ligeira redução da percentagem de ataque da primeira amostragem para a segunda, de em média de 6.9 para 6.6%. Entre as duas datas de amostragem observou-se uma correlação positiva, mas não significativa da percentagem de ataque por *O. maskelli*, nas várias famílias ( $r=0.373$ ,  $p=0.128$ ). Quando analisados estatisticamente os dados observou-se existir diferenças significativas entre famílias de *E. globulus* em ambas as datas de amostragem ( $F_{17,142}=7.300$ ,  $p<0.001$ , em Fevereiro e  $F_{17,142}=4.020$ ,  $p<0.001$ , em Maio). Na primeira amostragem as famílias 401610, 100111079, 100909035 e 100785018, tinham valores significativamente superiores às restantes (Teste Post-Hoc Dunnett's T3,  $p=0.05$ ) (Fig. 24), enquanto que na segunda amostragem as famílias 400873, 100763018 e 100785018 formam o grupo das mais susceptíveis (Teste Post-Hoc Dunnett's T3,  $p=0.144$ ) (Fig. 25).



**Fig. 24:** Famílias de *Eucalyptus globulus* ordenadas de acordo com a sua susceptibilidade a *Ophelimus maskelli* na amostragem de 13 de Fevereiro (famílias sobre a mesma barra, não são significativamente distintas, de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).



**Fig. 25:** Famílias de *Eucalyptus globulus* ordenadas de acordo com a sua susceptibilidade a *Ophelimus maskelli* em famílias de *Eucalyptus globulus* na amostragem de 16 de Maio (famílias sobre a mesma barra, não são significativamente distintas, de acordo com teste Post-Hoc Dunnett's T3 ( $\alpha=0.05$ )).

Numa análise da correlação da percentagem média de ataque nas duas datas pelas duas espécies observa-se que existe uma correlação negativa entre a variação de ataque pelas duas espécies galícolas, mas não significativa ( $r = -0.219$ ,  $p = 0.382$ ,  $n = 19$ ).

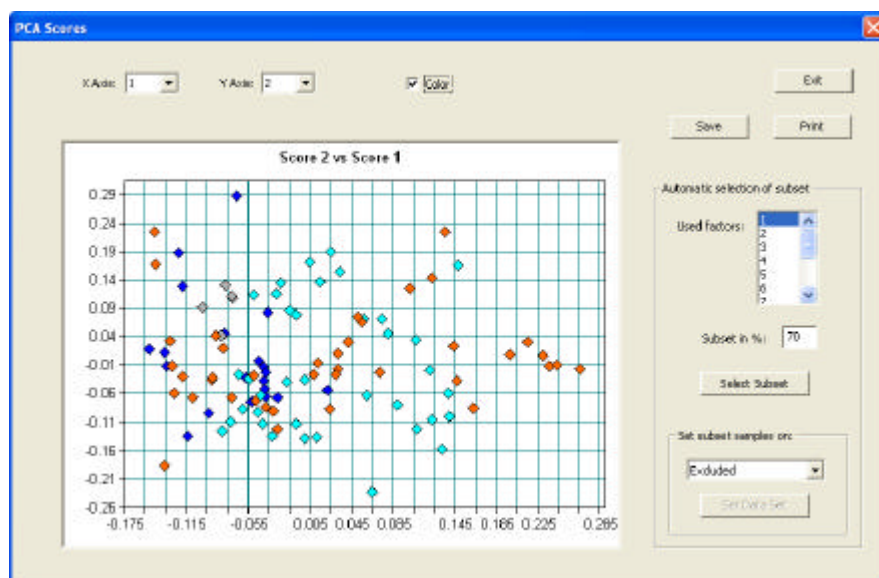
### Ensaio de campo

A amostragem de dia 16 de Maio de 2008 efectuada no ensaio instalado a 11 de Março de 2008 em Ponte de Sôr, com clones de uma família resistente de *Eucalyptus globulus*, não revelou ataque por qualquer uma das espécies em estudo. Este facto pode ser justificado por se estar a lidar com clones indicados como resistentes a *Leptocybe invasa* mas também devido à dimensão das plantas, ainda muito jovens, com cerca de 40cm de altura, ou à inexistência de folhas adultas recém-formadas. No entanto a espécie encontrava-se no local, uma vez que nas imediações foram encontradas plantas adultas de *E. camaldulensis*, espécie muito susceptível a *L. invasa*, com a presença de ambas as espécies.

Nas instalações do RAÍZ (Pegões) foram amostradas plantas envasadas de clones resistentes e susceptíveis de *E. globulus*. À semelhança do ensaio de Ponte de Sôr, não se encontraram plantas atacadas por qualquer uma das espécies indutoras de galhas, provavelmente devido às mesmas razões do ensaio, isto é, ao facto das plantas serem ainda muito jovens.

### 3.3. Análise de folhas de clones resistentes e susceptíveis a *Leptocybe invasa* por espectrometria de vermelho próximo (NIRS)

Após os espectros efectuados às folhas de *E. globulus* recolhidas a 16 de Maio nas instalações do RAÍZ (Pegões), calcularam-se as médias dos espectros efectuados a fresco e após liofilização para cada folha. A análise dos dados resultantes está representada na figura 26.



**Fig.26:** Resultado gráfico da análise das folhas de clones resistentes e susceptíveis a *Leptocybe invasa* por NIRS.



Esta análise gráfica revela que não é possível discriminar espectralmente os clones resistentes (laranja) dos susceptíveis (azul claro), nem dos muito susceptíveis (azul). Ou seja, a amostragem de folhas atacadas e não atacadas por *Leptocybe invasa*, efectuada em 2008, não revelou a existência de diferenças significativas que permitissem definir grupos entre os clones estudados, de acordo com a sua susceptibilidade ao insecto.

### 3.4. Padrões de distribuição de *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli*

Analisou-se a distribuição das duas espécies cecidogéneas nas mesmas plantas e partes da planta a fim de determinar a sua possível associação ou dissociação.

Os resultados indicam que para todas as análises existe uma tendência para uma dissociação, isto é associação negativa entre as duas espécies. No entanto, este resultado, isto é, associação negativa, só é significativo ao nível das folhas dos híbridos, onde a intensidade de amostragem foi grande. Apenas se verificou uma ligeira associação positiva entre as duas espécies, embora não significativa ( $p > 0.05$ ), ao nível das árvores na amostragem efectuada em Maio e ao nível dos ramos na amostragem dos híbridos.

Tabela de contingência para a amostragem em *E.globulus*, ao nível dos ramos, efectuada a 13 de Fevereiro de 2008 ( $X^2=2.617$ ,  $p=0.106$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	20	35	55	ad = 1160 bc = 1995 ad-bc = -835
	ausência	57	58	115	
		77	93	170	

Tabela de contingência para a amostragem em *E.globulus*, ao nível das árvores, efectuada a 13 de Fevereiro de 2008 ( $X^2=2.267$ ,  $p=0.132$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	10	7	17	ad = 30 bc = 98 ad-bc = -68
	ausência	14	3	17	
		24	10	34	

Tabela de contingência para a amostragem em *E.globulus*, ao nível dos ramos, efectuada a 16 de Maio de 2008 ( $\chi^2=2.059$ ,  $p=0.151$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	7	20	27	ad = 595
	ausência	58	85	143	bc = 1160
		65	105	170	ad-bc = -565

Tabela de contingência para a amostragem em *E.globulus*, ao nível das árvores, efectuada a 16 de Maio de 2008 ( $\chi^2=0.330$ ,  $p=0.566$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	9	2	11	ad = 54
	ausência	16	6	22	bc = 32
		25	8	33	ad-bc = 22

Tabela de contingência para a amostragem em genótipos híbridos de *Eucalyptus sp.*, ao nível das folhas ( $\chi^2=22.336$ ,  $p<0.001$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	153	923	1076	ad = 1689732
	ausência	2791	11044	13835	bc = 2576093
		2944	11967	14911	ad-bc = -886361

Tabela de contingência para a amostragem em genótipos híbridos de *Eucalyptus sp.*, ao nível dos ramos ( $\chi^2=3.821$ ,  $p=0.051$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	211	43	254	ad = 14559
	ausência	222	69	291	bc = 9546
		433	112	545	ad-bc = 5013

Tabela de contingência para a amostragem em genótipos híbridos de *Eucalyptus sp.*, ao nível das árvores ( $\chi^2=0$ ,  $p=0.992$ ).

		<i>O.maskelli</i>			
		presença	ausência		
<i>L.invasa</i>	presença	83	4	87	ad = 83
	ausência	21	1	22	bc = 84
		104	5	109	ad-bc = -1

#### 4.DISCUSSÃO

À semelhança do observado por Durand (2007), no presente estudo constatou-se que a susceptibilidade às duas espécies galícolas difere significativamente entre genótipos, quer ao nível dos híbridos, quer ao nível intra-específico entre famílias de *E. globulus*. Estas diferenças de susceptibilidade observadas entre os diversos materiais genéticos apontam para a existência de factores genéticos ligados à atractividade destas plantas aos galícolas para oviposição ou desenvolvimento larvar. Compostos químicos secundários (Barre *et al.*, 2002; Held, 2004; Jactel *et al.*, 1996a, 1996b) ou factores físicos, como a espessura, dureza ou forma das folhas (Barre *et al.*, 2002) poderão justificar estas diferenças, podendo os insectos ser muito discriminativos quanto aos hospedeiros usando sinais químicos ou físicos (Floate & Whitham, 1995). Diferenças na selecção de diferentes hospedeiros na oviposição pelas fêmeas ou de desenvolvimento têm sido registadas para diferentes fitófagos e patogéneos. Por exemplo, a concentração de azoto na folhagem jovem é um factor de escolha do hospedeiro para *Fiorinia externa* (McClure, 1980), assim como o vigor das plantas é um factor decisivo de desenvolvimento de *Cronartium fusiforme* em *Pinus* sp. (Mitterpergher & Raddi, 1975) e de *Pontania* sp. em salgueiros (Kokkonen, 2000), ou a dimensão de *Betula pendula* para *Phytobia betulae* (Ylioja *et al.*, 2000), já para *Diprion pini* a escolha de hospedeiros parece estar relacionada com a interacção entre vários factores (Barre *et al.*, 2002) mas em *Mnesampala privata* a escolha do hospedeiro parece estar associada às ceras presentes nas cutículas foliares (Rapley *et al.*, 2004).

Outra origem possível para as variações intra-específicas observadas pode ser a sincronização da fenologia das espécies indutoras de galhas com a fenologia da planta hospedeira. Mesmo que *Leptocybe invasa* tenha um desenvolvimento multivoltino e *Eucalyptus* spp. produza novas folhas na maior parte do ano, a fenologia da planta hospedeira pode influenciar o desenvolvimento e densidade do insecto devido à quantidade e qualidade dos recursos alimentares oferecidos. Verificou-se que clones de *E. globulus* instalados em plantações e mantidos em vasos ao ar livre, apesar de próximos de plantas afectadas, não revelaram a presença do insecto, por serem ainda plantas muito jovens. Todos estes clones apresentavam folhas juvenis, não coincidindo com a preferência do insecto para as posturas. A resistência dos clones, as reduzidas dimensões e as folhas juvenis podem ser razões suficientes para a inexistência de vestígios do insecto. Esta diferença de susceptibilidade de acordo com a fenologia é evidente noutras espécies, como seja na preferência de *Mycosphaerella* sp. por folhas juvenis de *E. globulus* (Milgate *et al.*, 2005), na maior susceptibilidade de plantas jovens de *Pinus sylvestris* a *Melampsora piniitorqua* (Quencez *et al.*, 2001), na forma das folhas de *E. globulus* para *Ctenarytaina eucalypti* (Dungey & Potts, 2003).

Apesar da variabilidade encontrada, a generalidade dos híbridos apresentou uma susceptibilidade grande às duas espécies de himenópteros galícolas, incluindo os híbridos de *E. globulus*, em particular a *O. maskelli*. Em estudos anteriores observou-se que os híbridos de eucaliptos apresentam maior sensibilidade à herbivoria por insectos, e em particular a insectos galícolas, quando comparados com os seus progenitores (Dungey *et al.*, 2000; Highsmith *et al.*, 2001; Morrow *et al.*, 1994). A comparação entre a densidade de galhas entre os híbridos e famílias de *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* presentes num parque de famílias apenas distanciados 50m (Durand, 2007), revelou que a susceptibilidade tanto a *L. invasa* como a *O. maskelli*, dos híbridos que têm como um progenitor *E. globulus*, em média, é superior à encontrada em plantas de *E. globulus*, para qualquer uma das famílias amostradas, concordando deste modo com a hipótese da ponte híbrida (Floate & Whitham, 1993). No entanto, estas comparações devem ser consideradas com algum cuidado, pois neste caso sabe-se que as árvores da plantação de *Eucalyptus globulus* spp. *globulus* e os híbridos, não estão parentalmente relacionadas. Por outro lado as plantas dos híbridos são mais jovens que as árvores de *E. globulus*, e sujeitas a podas intensas e regulares, o que também poderá afectar os resultados de susceptibilidade. Ainda assim observou-se que alguns híbridos, tendo como um dos progenitores *E. globulus*, se revelaram muito susceptíveis às duas espécies galícolas enquanto no campo raramente, e sempre em níveis muito baixos, se encontram ataques de *E. globulus* por *L. invasa* (Branco *et al.* 2006) e apenas ataques moderados por *O. maskelli* (Branco *et al.* 2009).

A investigação da influência de um dos progenitores ser *E. globulus* revelou uma susceptibilidade a *O. maskelli* semelhante à média dos restantes híbridos. Pelo contrário, no que diz respeito à susceptibilidade a *L. invasa*, os resultados sugerem que este insecto faz a distinção entre híbridos com e sem *E. globulus*, preferindo os segundos. Estes resultados sugerem diferenças de susceptibilidade de *E. globulus* às duas espécies galícolas, e apesar de *E. globulus* ser considerada uma espécie susceptível a ambos os himenópteros, admitimos, por hipótese, que a susceptibilidade de *E. globulus* a *O. maskelli* seja superior à sua susceptibilidade a *L. invasa*. Esta hipótese é corroborada pela análise de susceptibilidade aos dois insectos feita nas famílias de *E. globulus*. De facto, nas diferenças de susceptibilidade ao ataque por *L. invasa*, verificou-se que 7 das 18 famílias de *E. globulus* observadas se mostraram completamente resistentes a esta espécie, isto é, sem qualquer sinal de galhas e que, para a generalidade das restantes famílias onde se observou a presença de *L. invasa*, a percentagem de folhas atacadas foi inferior a 10%. Pelo contrário, todas as famílias de *E. globulus* mostraram presença de galhas por *O. maskelli* em pelo menos uma das datas e em 6 famílias observou-se uma percentagem de ataque entre 10 a 31%. Estes dois conjuntos de dados sugerem-nos a hipótese de que *E. globulus* apresenta maior susceptibilidade a *O. maskelli* que a *L. invasa*.

*E. globulus* é a espécie mais importante na Península Ibérica pelo seu uso na indústria da pasta e papel. *E. camaldulensis* é a segunda espécie de eucalipto mais cultivada em Portugal, sobretudo em zonas de lazer e alinhamentos de ruas e estradas. Ambas as espécies são consideradas susceptíveis a *Leptocybe invasa* (Mendel *et al.*, 2004) no entanto, estudos anteriores revelaram que *E. camaldulensis* é muito mais susceptível (Branco *et al.*, 2006; Mendel *et al.* 2004). No presente trabalho confirma-se a reduzida susceptibilidade de *E. globulus* a *L. invasa*, em particular quando comparado com uma outra espécie muito susceptível, *E. tereticornis*, que tal como *E. camaldulensis* pertence à secção Exsertaria e é igualmente muito susceptível a esta espécie cecidogénea. Em Portugal, foram observados *Eucalyptus globulus* atacados por *L. invasa* apenas em duas localidades (Durand, observações pessoais), sendo uma delas o parque de *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* localizado perto de Pegões, nas instalações do RAÍZ.

Em Israel observaram-se galhas na folhagem jovem e madura de *Eucalyptus globulus* contudo, em Portugal foram observadas apenas em folhas maduras (Durand, informações pessoais). Isto pode significar que o *Leptocybe invasa* não é afectado por alterações na forma das folhas de *Eucalyptus globulus* ao longo do seu desenvolvimento. O *Eucalyptus globulus* Labill é uma espécie complexa, composta por quatro subespécies definidas por diferenças morfológicas (Kirkpatrick, 1975). As subespécies são: ssp. *bicostata* Maiden, Blakely & J. Simm, ssp. *globulus*, ssp. *maidenii* F.Muell e ssp. *pseudoglobulus* Naudin ex Maiden. Contudo, a indústria florestal mostrou mais interesse pelo *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* (Jones *et al.*, 2002). Diferenças entre as plantas cultivadas em Portugal e as plantas amostradas em Israel poderão estar na origem das diferenças de susceptibilidade encontradas nestes dois países.

Outro hospedeiro altamente sensível e comumente encontrado em Portugal é *E. tereticornis*, que foi na maior parte do tempo intensamente atacado por *Leptocybe invasa* (Durand, 2007). À semelhança de *Eucalyptus camaldulensis* não é economicamente interessante e encontra-se disperso na paisagem.

Em 2008, as espécies hospedeiras estudadas foram *E. globulus* e *E. tereticornis* e os resultados foram concordantes com os de Durand (2007), verificando-se que a variação inter-específica na susceptibilidade a *L. invasa* entre famílias se manteve de um ano para o outro. O facto de a variação de susceptibilidade genética em *E. globulus* ssp. *globulus* relativamente a *L. invasa* ser significativa constitui, segundo Durand (2007), um resultado inovador. *E. tereticornis* não sofreu ataque por *Ophelimus maskelli*, como tal não foi possível avaliar a variação de susceptibilidade inter-específica face a este insecto. Entre ambas as amostragens não se observou qualquer relação significativa.

A monitorização efectuada em clones indicados como resistentes num ensaio de plantação não revelou qualquer ataque, à semelhança do observado para clones resistentes e

susceptíveis envasados nas instalações do RAÍZ. O insecto foi observado na proximidade de ambos os locais, sendo sugerido que a resistência dos clones poderá ser a razão da ausência de ataque. Contudo, as plantas monitorizadas em ambos os locais apresentavam reduzidas dimensões e folhas juvenis, podendo ser esta outra justificação para a inexistência de vestígios do insecto. Uma vez que o insecto não discrimina folhas jovens nem maduras (Carnegie & Ades, 2005; Dungey *et al.*, 1997; Mlgate *et al.*, 2005), a altura das plantas pode influenciar a sua escolha (Mittempergher & Raddi, 1975; Silen *et al.*, 1993).

Durand (2007) aplicou a técnica NIRS para encontrar diferenças entre folhas de genótipos de *Eucalyptus globulus* apresentando diferentes susceptibilidades ao *Leptocybe invasa*. Os resultados revelaram diferenças na impressão digital química de folhas de dois genótipos, ou seja, os resultados de PCA (análise NIRS) mostram que é possível discriminar entre dois genótipos, um susceptível e um resistente, baseando-nos nesses espectros. Infelizmente a interpretação do espectro é difícil, principalmente devido à superposição da informação química respeitante às amostras. Em 2007 a diferenciação química entre os dois genótipos revelou-se óptima com o espectro de folhas secas intactas, provavelmente devido à contribuição de CH<sub>2</sub> das cutículas. No entanto, em oposição aos resultados de Durand (2007), a análise NIRS não permitiu efectuar a distinção entre clones resistentes e susceptíveis na amostra recolhida em 2008. O facto de em 2008 as folhas estarem também atacadas por *O. maskelli*, que induz galhas no limbo nas folhas, situação que não se verificava em 2007, pode ter afectado os resultados, pois numa fase inicial de formação da galha esta não se distingue dos diferentes tecidos da planta mas influenciará certamente a sua composição química.

A comparação dos dados das amostragens efectuadas em 2007 e 2008 revelou uma redução, de cerca de 50%, na intensidade de ataque por *L. invasa*, sendo significativa a redução da percentagem de folhas atacadas por este himenóptero. Em 2007, *L. invasa* era o único insecto galícola presente no local, contudo em 2008 ocorreu uma nova espécie, *O. maskelli*, logo admite-se que esta redução na percentagem de ataque poderá dever-se à influência da presença de *O. maskelli* nos genótipos de *Eucalyptus* sp., estabelecendo-se uma competição inter-específica entre os dois galícolas.

A análise das tabelas de contingência efectuadas para o ano de 2008 revelou uma tendência para a dissociação das duas espécies galícolas ao nível da folha, ou seja, *L. invasa* e *O. maskelli* aparecem mais vezes separadas, em folhas distintas, do que associadas, isto é, presentes na mesma folha. Este resultado corrobora a hipótese da existência de competição entre ambas as espécies, no sentido em que a presença de uma das espécies condiciona a presença e/ou desenvolvimento da outra no mesmo órgão da

mesma planta. Dado que as duas espécies no seu meio natural têm semelhante distribuição geográfica e colonizam os mesmos hospedeiros (Protasov *et al.*, 2007b), é provável que tenham evoluído no sentido de alguma separação dos seus nichos ecológicos, em particular quando juntas no mesmo hospedeiro, de modo a reduzir a competição inter-específica à semelhança do observado com outras espécies competidoras (Begon *et al.*, 1996; Bouletreau *et al.*, 1991; Hochberg, 1991; MacArthur, 1972). Segundo dados de Protasov *et al.* (2007b), há uma preferência de *O. maskelli* pela zona de base da copa das árvores enquanto *L. invasa* manifesta uma preferência pelo topo das copas. Esta separação por zonas da árvore permitiria reduzir a competição inter-específica. Segundo os dados deste trabalho há uma separação também ao nível das folhas dentro do mesmo ramo.

Os resultados de dissociação (isto é associação negativa) são apenas significativos ao nível das folhas, ao nível dos ramos ou das árvores a relação das duas espécies é neutra, ou até ligeiramente positiva, embora não significativa, quer nos híbridos, quer nas árvores de *E. globulus*. Este resultado mostra que as duas espécies poderão manifestar preferência, pelo menos em parte, pelos mesmos tipos de hospedeiros.

De acordo com os resultados do presente estudo, a espécie *E. globulus* (que apresenta uma elevada expressão nas plantações florestais de Portugal) mostra-se moderadamente resistente aos dois himenópteros galícolas, embora mais a *L. invasa* que a *O. maskelli*. Por este facto, estes insectos não aparentam manifestar um problema para a indústria da pasta de papel. No entanto, caso se venha a optar pelo uso de plantações de híbridos tanto para a produção de pasta de papel como para a produção de madeira e biomassa (Assis, 2000; Bison, 2004; Christersson & Verma, 2006; Gominho *et al.*, 2005; Malan, 1995; Queiroz *et al.*, 2004; Santos *et al.*, 2008), a susceptibilidade esperada face aos dois insectos será muito superior.

Neste trabalho verificou-se que existem 4 híbridos particularmente resistentes a *O. maskelli*. Três resultam, respectivamente, de cruzamentos de *E. nitens* com *E. globulus*, *E. algeriensis* e *E. trabutii* e o outro, trata-se de um cruzamento *E. grandis* x *E. globulus*. Três destes cruzamentos: *E. nitens* x *E. globulus*, *E. grandis* x *E. globulus* e *E. nitens* x *E. algeriensis* mostraram-se moderadamente resistentes às duas espécies galícolas. Neste contexto, os resultados obtidos constituem uma informação de base útil para analisar diferenças de susceptibilidade entre diferentes híbridos, que deverão ser consideradas quando se opte por este tipo de silvicultura.

## 5.CONCLUSÕES

Num trabalho anterior, conduzido em Israel por Mendel *et al.* (2004), verificou-se que um vasto conjunto de eucaliptos, pertencentes às secções Exsertaria, Latoangulata e Maidenaria, é susceptível a duas espécies de insectos indutores de galhas, *Leptocybe invasa* e *Ophelimus maskelli*. No presente estudo foi possível observar diferenças significativas entre duas possíveis espécies hospedeiras de *Leptocybe invasa* pertencentes a essas secções, *Eucalyptus globulus* e *Eucalyptus tereticornis*, e para as duas espécies de galícolas, entre híbridos de eucaliptos pertencentes às três secções acima indicadas, e entre famílias de *E. globulus* ssp. *globulus*. Esta última espécie, sendo a espécie de eucalipto mais importante economicamente em Portugal, praticamente não sofreu ataque por *Leptocybe invasa* e revelou uma susceptibilidade baixa a *O. maskelli*. No entanto, verificou-se que as famílias de *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* evidenciam uma variação intra-específica, existindo algumas famílias com uma susceptibilidade moderada às duas espécies galícolas. Por outro lado, os híbridos em que um dos progenitores é *E. globulus* mostraram uma grande variabilidade na sua susceptibilidade aos dois himenópteros que, em média, para *O. maskelli* foi semelhante à dos restantes híbridos. Assim, e relativamente aos híbridos de *Eucalyptus* sp., os resultados concordam com a hipótese de estes terem uma maior susceptibilidade que os indivíduos das espécies progenitoras.

As diferenças de susceptibilidade entre os diversos materiais genéticos apontam para a existência de factores genéticos ligados à atractividade destas plantas aos galícolas, para oviposição ou desenvolvimento larvar. Outra origem possível para as variações intra-específicas observadas pode ser a sincronização de espécies indutoras de galhas com a fenologia da planta hospedeira. Tanto em plantações muito jovens, com cerca de 6 meses de idade, como em plantas muito jovens em vaso mantidas ao ar livre, não se observou a presença de galhas, apesar de próximos de plantas afectadas, o que se justifica pelo facto destas plantas apresentarem folhas juvenis, pouco preferidas pelas vespas.

A variação inter-anual da percentagem de ataque revelou uma redução de folhas atacadas por *Leptocybe invasa* para cerca de 50%, entre 2007 e 2008, sugerindo que houve um efeito de competição inter-específica exercido por *Ophelimus maskelli*. As amostragens efectuadas em famílias de *E. globulus* e em híbridos permitiram afirmar que as duas espécies de insectos galícolas se encontram maioritariamente dissociadas ao nível da folha, mas não dos ramos ou das árvores, o que sugere uma diferenciação do seu nicho ecológico ao nível dos órgãos das plantas afectados, de modo a reduzir-se a competição inter-específica.

A análise química das folhas por NIRS, efectuada para compreender as diferenças entre genótipos sensíveis e resistentes de *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus*, não revelou



resultados conclusivos, uma vez que não se observaram diferenças químicas entre árvores resistentes e atacadas, embora esta técnica tenha permitido efectuar este tipo de distinção em trabalhos anteriores. Admite-se que a ocorrência de galhas por *O. maskelli*, numa fase inicial, ainda não detectáveis, possa ter influenciado, em parte, os resultados.

O facto de determinadas plantas serem mais ou menos susceptíveis a agentes patogénicos deverá funcionar como impulsor para programas de melhoramento e produção de plantas. Sabendo que, teoricamente, plantas híbridas poderão apresentar uma susceptibilidade superior à das plantas progenitoras individualmente, os cruzamentos a realizar deverão considerar espécies progenitoras mais resistentes, evitando deste modo a possibilidade de os povoamentos serem intensamente atacados. Nos dados obtidos, os cruzamentos de *E. nitens* x *E. globulus* e *E. grandis* x *E. globulus*, revelaram-se os mais promissores, no sentido de serem os mais resistentes às duas espécies galícolas.

## 6.BIBLIOGRAFIA

- Aguilar, J.M, W.J. Boecklen (1992). "Patterns of herbivory in the *Quercus-grisea* × *Quercus gambelii* species complex" *Oikos* **64** (3): 498-504.
- Amaro, P., M. Baggiolini (1982). Introdução à protecção Integrada. Lisboa, FAO/DGPPA.
- Arzone, A., A. Alma (2000). "Gall eulophid of Eucalyptus in Italy" *Inf. Fitopatologico* **50**: 43–46.
- Assis, T.F. (2000). Production and use of eucalyptus hybrids for industrial purposes. In: Hybrid breeding and genetics of forest trees. Noosa, Queensland, Australia. Proceedings of the Queensland Forest Research Institute/Cooperative Research Center – Sustainable Production Forestry (QFRI/CRC-SPF) Symposium. pp: 63-74.
- Austin, A.D., D.K. Yeates, G. Cassis, M.J. Fletcher, J. La Salle, J.F. Lawrence, P.B. McQuillan, L.A. Mound, D.J. Bickel, P.J. Gullan, D.F. Hales, G.S. Taylor (2004). "Insects "Down Under" – Diversity, endemism and evolution of the Australian insect fauna: examples from select orders" *Australian Journal of Entomology* **43**: 216–234.
- Bailey, J.K., S.C. Wooley, R.L. Lindroth, T.G. Whitham (2006). "Importance of species interactions to community heritability: a genetic basis to trophic-level interactions" *Ecology Letters*. **9**: 78-85.
- Barre, F., F. Milsant, C. Palasse, V. Prigent, F. Goussard, C. Géri (2002). "Preference and performance of the sawfly *Diprion pini* on host and non-host plants of the genus *Pinus*" *Entomologia Experimentalis et Applicata* **102**: 229-237.
- Batish, D.R., H.P. Singh, R.K. Kohli, S. Kaur (2008). "Eucalyptus essential oil as a natural pesticide" *Forest Ecology and Management* **256**: 2166-2174.
- Begon, M., M. Mortimer, D.J. Thompson (1996). *Population Ecology – A unified study of animals and plants*. Cambridge, University Press. 247pp.
- Bison, O. (2004). Melhoramento de eucalipto visando a obtenção de clones para a indústria de celulose. Tese de doutoramento em Agronomia, área de Genética e Melhoramento de Plantas. Lavras, Brasil, UFLA: 169pp.
- Blanche, K.R., M. Westoby (1996). "The effect of the taxon and geographic range size of host eucalypt species on the species richness of gall-forming insects" *Aust. J. Ecol.*, **21**: 332–335.
- Borralho, N.M.G., M.H. Almeida, B.M. Potts (2007). O melhoramento do eucalipto em Portugal. In: *Eucaliptal em Portugal: Impactes Ambientais e Investigação Científica*. Lisboa, ISAPress: 61-110.
- Bouletreau, M., P. Fouillet, R. Allemand (1991). *Parasitoids affect competitive interactions between the sibling species Drosophila melanogaster and D. simulans*. In: Insect parasitoids: 4th European Workshop, Perugia, Redia, **LXXIV** (3): 171-177.

- Branco, M., J.C. Franco, C. Valente, Z. Mendel (2006). "Survey of *Eucalyptus* gall wasps (Hymenoptera: Eulophidae) in Portugal". *Bol. San. Veg.* **32**: 199-202.
- Branco, M., C. Boavida, N. Durand, J.C. Franco, Z. Mendel (2009). "Presence of the *Eucalyptus* gall wasp *Ophelimus maskelli* and its parasitoid *Closterocerus chamaeleon* in Portugal: First record, geographic distribution and host preference" *Phytoparasitica* **37**: 51-54.
- Buss, E.A. (2003). *Insect Galls*. UF-IFAS.
- Carnegie, A.J., P.K. Ades (2005). "Variation in *Eucalyptus globulus* LABILL. and *E. nitens* DEAN and MAIDEN in Susceptibility of Adult Foliage to Disease Caused by *Mycosphaerella cryptica* (COOKE) HANSF" *Silvae Genetica*. **54** (4-5): 174-184.
- Christersson, L., K. Verma (2006). "Silvicultura de rotación corta: un complemento de la silvicultura «convencional»". *Unasylva* **223**: 34-39.
- Craig, T.P., L.M. Araújo, J.K. Itami, G.W. Fernandes (1991). "Development of the insect community centered on a leaf-bud gall formed by a weevil (Coleoptera, Curculionidae) on *Xilopia aromatica* (Annonaceae)" *Revista Brasileira de Entomologia* **35** (2): 311-317.
- Crespi, B.J., D.A. Carmean, L.A. Mound, M. Worobey, D. Morris (1998). "Phylogenetics of social behaviour in Australian gall-forming thrips: evidence from mitochondrial DNA sequence, adult morphology and behaviour, and gall morphology" *Mol. Phylogenet. Evol.* **9** (1): 163-180.
- Dix, M.E., M. Harrel, N.B. Klopfenstein, K. Barkhouse, R. King, R. Lawson (1996). "Insect Infestations and Incidence of Western Gall Rust Among Ponderosa Pine Sources Grown in the Central Great Plains" *Environmental Entomology*. **25** (3): 611-617.
- Doganlar, M., Z. Mendel (2007). "First record of the *Eucalyptus* gall wasp, *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Calcidoidea: Eulophidae: Eulophinae: Ophelimi) and its parasitoid, *Closterocerus chamaeleon* (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eulophidae: Entedoninae) in Turkey" *Phytoparasitica* **35** (4): 333-335.
- Dungey, H.S., B.M. Potts, A.J. Carnegie, P.K. Ades (1997). "Mycosphaerella leaf disease: genetic variation in damage to *Eucalyptus nitens*, *Eucalyptus globulus*, and their F<sub>1</sub> hybrid" *Can.J.For.Res.* **27**: 750-759.
- Dungey, H.S., B.M. Potts, T.G. Whitham, H.F. Li (2000). "Plant genetics affects arthropod community richness and composition: evidence from a synthetic eucalypt hybrid population" *Evolution* **54** (6): 1938-1946.
- Dungey, H.S., B.M. Potts (2003). "Eucalypt hybrid susceptibility to *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae)" *Austral. Ecology* **28**: 70-74.
- Durand, N. (2007). Susceptibility variation in *Eucalyptus* spp. relative to action of *Leptocybe invasa* (Hymenoptera: Eulophidae), a new invasive gall wasp occurring in Portugal. Departamento de Engenharia Florestal. Lisboa, ISA, UTL: 26pp.

- Dutkowski, G.W., B.M. Potts (1999). "Geographical patterns of genetic variation in *Eucalyptus globulus* ssp. *globulus* and a revised racial classification" *Australian Journal of Botany* **46**: 237–263.
- Edwards, O.R., R. Horbury, T.J. Ridsdill-Smith (2000). Suitability of alternative pasture legumes to bluegreen aphid feeding. Proceedings of the 7th Australasian Conference on Grassland Invertebrate Ecology: 262–267.
- Farrow, R.A., R.B. Floyd, F.G. Newmann (1994). "Inter-provenance variation in resistance of *Eucalyptus globulus* to insect feeding" *Australian Forestry* **57**: 65–68.
- Floate, K.D., T.G. Whitham (1995). "Insects as traits in plant systematics—their use in discriminating between hybrid cottonwoods" *Canadian Journal of Botany* **73** (1): 1-13.
- Floate, K.D., G.D. Martinsen, T.G. Whitham (1997). "Cottonwood hybrid zones as centres of abundance for gall aphids in western North America: Importance of relative habitat size" *Journal of Animal Ecology* **66** (2): 179-188.
- Floyd, R.B., C.A. Raymond (1999). Insect resistance of Eucalyptus species in Australia. In: Proceedings of International Forest Insect Workshop. Pucon, Chile.
- Fritz, R.S., C.M. Nichols-Orians, S.J. Brunsfeld (1994). "Interspecific hybridization of plants and resistance to herbivores - hypotheses, genetics, and variable responses in a diverse herbivore community" *Oecologia* **97** (1): 106-117.
- Fritz, R.S. (1999). "Resistance of hybrid plants to herbivores: genes, environment, or both?" *Ecology* **80** (2): 382–391.
- Fusaro, E. (1997). "Risultati preliminari sulla sperimentazione in Italia di alcune provenienze mediterranee di *Pinus pinaster* Ait." *Monti e Boschi* **48** (3): 48-53.
- Gao, L., B. Li (2006). "A potential native natural enemy of invasive aquatic weed – water hyacinth" *Biological Invasions* **8**: 1689-1692.
- Gominho, J., S. Knapic, H. Pereira (2005). "Cerne e borne – factores de variação da qualidade tecnológica das árvores" *Ciência e Tecnologia dos Materiais, Revista da Sociedade Portuguesa de Materiais* **16** (2/3): 99-107.
- Hanks, L.M., J.G. Millar, T.D. Paine, C.D. Campbell (2000). "Classical biological control of the Australian weevil *Gonipterus scutellatus* (Coleoptera: Curculionidae) in California" *Environmental Entomology* **29** (2): 369-375.
- Harfouche, A., A. Kremer (2000). "Provenance hybridization in a diallel mating scheme of maritime pine (*Pinus pinaster*). I. Means and variance components" *Can.J.For.Res.* **30**: 1-9.
- Hathaway, R.L., D. Penny (1975). "Root strength in some *Populus* and *Salix* clones" *New Zealand Journal of Botany* **13**: 333-344.

- He, Y., X. Li, X. Deng (2006). "Discrimination of varieties of tea using near-infrared spectroscopy by principal component analysis and B. P. model" *Journal of Food Engineering* **79**: 1238-1242.
- Heidger, C.M., F. Lieutier (2002). Possibilities to utilize tree resistance to insects in forest pest management in Central and Western Europe. *Mechanisms and deployment of resistance in trees to insects*. M.R. Wagner *et al.* Editors. Netherlands, Kluwer Academic Publishers: 239-263.
- Held, D.W. (2004). "Relative Susceptibility of Woody Landscape Plants to Japanese Beetle (*Coleoptera: Scarabaeidae*)" *Journal of Arboriculture* **30** (6): 328-335.
- Highsmith, M.T., J. Frampton, D. O'Malley, J. Richmond, M. Webb (2001). "Susceptibility of parent and interspecific F1 hybrid pine trees to tip moth damage in a coastal North Carolina planting" *Can.J.For.Res.* **31**: 919-923.
- Hochberg, M.E. (1991). "Intra-host interactions between a braconid endoparasitoid, *Apanteles glomeratus* and a baculovirus for larvae of *Pieris brassicae*" *Journal of Animal Ecology* **60** (1): 51-63.
- Hodge, G.R., W.S. Dvorak (2000). "Differential responses of Central American and Mexican pine species and *Pinus radiata* to infection by the pitch canker fungus" *New Forests* **19**: 241-258.
- Huber, J.T., Z. Mendel, A. Protasov, J. La Salle (2006). "Two new Australian species of *Stethynium* (Hymenoptera: Mymaridae), larval parasitoids of *Ophelimus maskelli* (Ashmead) (Hymenoptera: Eulophidae) on *Eucalyptus*" *Journal of Natural History* **40** (32-34): 1909-1921.
- Jactel, H., P. Menassieu, M. Kleinhert (1996a). La vigueur accroît la sensibilité du pin maritime à la pyrale du tronc, *Dioryctria sylvestrella*. Interactions insectes-plantes: Actes des 5<sup>e</sup> journées du groupe de travail Relations insectes-plantes, Montpellier, France.
- Jactel, H., M. Kleinhentz, A. Marpeau-Bezard, F. Marion-Poll, P. Menassieu, C. Burban (1996b). "Terpene variations in maritime pine constitutive oleoresin related to host tree selection by *Dioryctria sylvestrella* Ratz. (Lepidoptera: Pyralidae)" *Journal of Chemical Ecology* **22** (5): 1037-1050.
- Jactel, H., M. Kleinhentz, A. Raffin, P. Menassieu (1997). Comparison of different selection methods for the resistance to *Dioryctria sylvestrella* Ratz. (Lepidoptera: Pyralidae) in *Pinus pinaster* Ait.. *Physiology and Genetics of Tree-Phytophage Interactions*: 137-149.
- Jensen, J.S., J.D. Deans (2004). "Late autumn frost resistance of twelve north european provenances of *Quercus* species" *Scandinavian Journal of Forest Research* **19**: 390-399.
- Johnson, J.E., R.E. Kreh, J.L. Torbet (1997). "Comparison of Scotch Pine Christmas Tree Varieties in Virginia" *South J. Appl. For.* **21** (2): 57-63.

- Jones, T., B.M. Potts (2000). "Genetic variation in susceptibility of *Eucalyptus globulus* coppice regrowth to shoot-feeding weevils (*Myllorhinus* spp.)" *Tasforests* **12**: 147-154.
- Jones, T.H., B.M. Potts, R.E. Vaillantcourt, N.W. Davies (2002). "Genetic resistance of *Eucalyptus globulus* to autumn gum moth defoliation and the role of cuticular waxes". *Can. J. For. Res.* **32**: 1961-1969.
- Kim, I.K., M. McDonald, J. La Salle (2005). "Moona, a new genus of tetrastichine gall inducers (Hymenoptera: Eulophidae) on seeds of *Corymbia* (Myrtaceae) in Australia" *Zootaxa* **989**: 1-10.
- Kirkpatrick, J.B. (1975). Geographical variation in *Eucalyptus globulus*. Canberra, Australian Government Publishing Service. **47**: 64pp.
- Kokkonen K. (2000). "Mixed significance of plant vigor: two species of galling *Pontania* in a hybridizing willow complex" *Oikos* **90**: 97-106.
- Lamb, K.P. (1960). A check list of New Zealand plant galls (Zoocecidia). *Transactions of the Royal Society of New Zealand*. **88**: 121-139.
- Laudonia, S., G. Viggiani (2003). Descrizione degli stadi preimmaginali dell'Imenottero galligeno *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae). *Boll.Lab.Ent.agr. Filippo Silvestri*. **59**: 93-98.
- Laudonia, S., G. Viggiani, R. Sasso (2006a). "Nouva introduzione in Italia – Parassitoide esotico in aiuto degli eucalipti". Dipartimento di entomologia e zoologia agrária, Università di Napoli Federico II, lavoro svolto nell'ambito del Progetto CRAA "Nuovi insetti esotici degli *Eucalyptus* spp. accidentalmente introdotti in Campagna. Prog. 16/2004".
- Laudonia, S., R. Sasso, G. Viggiani (2006b). "Sull'introduzione di *Closterocerus* sp. (Hymenoptera: Eulophidae) per il controllo dell'eulophide galligeno dell'eucalipto *Ophelimus maskelli* Ashmead in Campagna". Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria "Filippo Silvestri", Università degli studi di Napoli "Federico II", lavoro svolto nell'ambito di un Progetto CRAA "Nuovi insetti esotici degli *Eucalyptus* spp. accidentalmente introdotti in Campagna. Prog. 16/2004".
- Loch, A.D. (2008). "Parasitism of the eucalyptus weevil, *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal, by the egg parasitoid, *Anaphes nitens* Girault, in *Eucalyptus globulus* plantations in southwestern Australia" *Biological Control* **47** (1): 1-7.
- MacArthur, R.H. (1972). *Geographical Ecology – Patterns in the distribution of species*. New Jersey, Princeton University, Harper & Row Publishers: 269pp.
- Martínez, A. De la M. (1990). Ensayo de procedencias de *Eucalyptus globulus* Labill en Galicia (España). In: II Congresso Florestal Nacional. Faculdade de Economia, Porto. **1**: 406-419.

- Malan, F.S. (1995). Eucalyptus improvement for lumber production. Anais do Seminário Internacional de Utilização da Madeira de Eucalipto para Serraria. São Paulo, Brasil: 1-19.
- McClure, M.S. (1980). "Foliar Nitrogen: A Basis for Host Suitability for Elongate Hemlock Scale, *Fiorinia externa* (Homoptera: Diaspididae)" *Ecology* **61** (1): 72-79.
- Mendel, Z., A. Protasov, N. Fisher, J. La Salle (2004). "Taxonomy and biology of *Leptocybe invasa* gen & sp. n. (Hymenoptera: Eulophidae), an invasive gall inducer on *Eucalyptus*" *Australian Journal of Entomology* **43** (2): 101-113.
- Mendel Z., A. Protasov, N. Saphir, D. Brand, D. Blumberg, F. Assael, J. LaSalle (2005). Insect plant interactions of two invasive eucalyptus gall inducers, *Leptocybe invasa* and *Ophelimus maskelli* (Hymenoptera: Eulophidae), and management possibilities. IV Congresso Nacional de Entomologia Aplicada. Bragança, Portugal. (in English)
- Mendel, Z., A. Protasov, D. Blumberg, D. Brand, N. Saphir, Z. Madar, J. LaSalle (2007). "Release and recovery of parasitoids of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* in Israel" *Phytoparasitica* **35** (4): 330-332.
- Milgate, A.W., B.M. Potts, K. Joyce, C. Mohammed, R.E. Vaillancourt (2005). "Genetic variation in *Eucalyptus globulus* for susceptibility to *Mycosphaerella nubilosa* and its association with tree growth" *Australasian Plant Pathology* **34**: 11-18.
- Mitterpergher, L., P. Raddi (1975). "Relationship between vigour and susceptibility of Austrian pine (*Pinus nigra*) to blister rust (*Cronartium flaccidum*)" *Eur. J. For. Path.* **5**: 44-49.
- Morrow, P.A., L.R. Fox (1980). "Effects of variation in *Eucalyptus* essential oil yield on insect growth and grazing damage" *Oecologia* **45**: 209-219.
- Morrow, P.A., T.G. Whitham, B.M. Potts, P. Ladiges, D.H. Ashton, J.B. Williams (1994). Gall-forming insects concentrate on hybrid phenotypes on *Eucalyptus* hosts. In *The Ecology and Evolution of Gall-Forming Insects*. P.W. Price et al. Eds.. St. Paul, Minnesota, General Technical Report NC-174: 121-134.
- O'Reilly-Wapstra, J.M., C. McArthur, B. Potts (2002). "Genetic variation in resistance of *Eucalyptus globulus* to marsupial browsers" *Oecologia* **130**: 289-296.
- Organisation Européenne et Méditerranéenne Pour la Protection des Plantes (OEPP) (2006a). Premiers signalement d'*Ophelimus eucalypti* sur eucalyptus en Italie, Grèce et Espagne. Paris. Service d'Information n° 9, 2006/188.
- Organisation Européenne et Méditerranéenne Pour la Protection des Plantes (OEPP) (2006b). Premier signalement de deux nouveaux ravageurs des eucalyptus dans le sud de la France: *Ophelimus maskelli* et *Leptocybe invasa*. Paris. Service d'Information n° 9, 2006/189.

- Organisation Europeenne et Mediterraneenne Pour la Protection des Plantes (OEPP) (2006c). Addition de *Leptocybe invasa* à la Liste d'Alerte de l'OEPP. Paris. Service d'Information n° 9, 2006/190.
- Potts, B.M., R.E. Vaillancourt, G. Jordan, G. Dutkowski, J.C. Silva, G. McKinnon, D. Steane, P. Volker, G. Lopez, L. Apiolaza, Y. Li, C. Marques, N. Borralho (2004). *Exploration of the Eucalyptus globulus gene pool*. In: Borralho, N., et al. (2004). *Eucalyptus in a Changing World*. Proc. of IUFRO Conf., Aveiro.
- Protasov A., N. Saphir, D. Brand, D. Blumberg, F. Assael, Z. Mendel (2006). Eucalyptus gall wasp (*Ophelimus maskelli*) - biological control and management. 25th Israeli Entomological Society Meeting. Agricultural Research Organization. The Volcani Center, Bet-Dagan, Israel. (In Hebrew)
- Protasov, A., D. Blumberg, D. Brand, J. LaSalle, Z. Mendel (2007a). "Biological control of the eucalyptus gall wasp *Ophelimus maskelli* (Ashmead): Taxonomy and biology of the parasitoid species *Closterocerus chamaeleon* (Girault), with information on its establishment in Israel". *Biological Control – Elsevier* **42** (2): 196-206.
- Protasov, A., J. LaSalle, D. Blumberg, D. Brand, N. Saphir, F. Assael, N. Fisher, Z. Mendel (2007b). "Biology, Revised Taxonomy and Impact on Host Plants of *Ophelimus maskelli*, an Invasive Gall Inducer on *Eucalyptus* spp. in the Mediterranean Area" *Entomology - Phytoparasitica* **35** (1): 50-76.
- Queiroz, S.C.S., J.L. Gomide, J.L. Colodette, R.C. de Oliveira (2004). "Influência da densidade básica da madeira na qualidade da polpa de kraft de clones híbridos de *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden x *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake". Sociedade de Investigações Florestais (SIF), *Revista Árvore* **28** (6): 901-909.
- Quencez, C., M.L. Desprez-Loustau, C. Bastien (2001). "Reliability of field, greenhouse and cut-shoot screening procedures for evaluating susceptibility of Scots pine to *Melampsora pinitorqua*" *For. Path.* **31**: 193-208.
- Raddi, P., A. Fagnani (1981). "Blister rust in maritime pine". *Eur. J. For. Path.* **11**: 187-190.
- Rapley, L.P., G.R. Allen, B.M. Potts (2004). "Susceptibility of *Eucalyptus globulus* to *Mnesampela privata* defoliation in relation to a specific foliar wax compound" *Chemoecology* **14**: 157-163.
- Raymond, C.A. (1995). "Genetic variation in *Eucalyptus regnans* and *E. nitens* for levels of observed defoliation caused by the *Eucalyptus* leaf beetle, *Chrysophtharta bimaculata* Olivier, in Tasmania" *Forest Ecology and Management* **72**: 21–29.
- Raymond, C.A., L.R. Schimleck, A. Muneri, J. Michell (2001). "Nondestructive sampling of *Eucalyptus globulus* and *E. nitens* for wood properties: III. predicted pulp yield using near infrared reflectance analysis" *Wood Science and technology* **35**: 203-215.



- Robin, C., M.-L. Desprez-Loustau (1998). "Testing variability in pathogenicity of *Phytophthora cinnamomi*" *European Journal of Plant Pathology* **104**: 465-475.
- Rodrigues, J.C., A.C. Nascimento, A. Alves, N.M. Osório, A.S. Pires, J.H. Gusmão, M.M.R. da Fonseca e S. Ferreira-Dias (2005). "Calibration of near-infrared spectroscopy for solid fat content of fat blends analysis using nuclear magnetic resonance data" *Analytica Chimica Acta* **544**: 213-218.
- Rousi, M., J. Tahvanainen, H. Henttonen, D.A. Herms, I. Uotila (1997). "Clonal variation in susceptibility of white birches (*Betula* spp.) to mammalian and insect herbivores" *Forest Science* **43** (3): 396-402.
- Sanches, M.A. (2000). "Parasitismo de ovos de *Gonipterus scutellatus* (Gyllenhall, 1833) e *Gonipterus gibberus* (Boisduval, 1835) (Coleoptera, Curculionidae) por *Anaphes nitens* (Girault, 1928) (Hymenoptera, Mymaridae) em Colombo (Paraná, Brasil)" *Arquivos do Instituto Biológico* **67**: 77-82.
- Santos, J.A., J. Santos, N. Borralho, J. Araújo (2008). "Caracterização das potencialidades de utilização da madeira de híbridos de eucalipto" *Silva Lusitana* **16** (1): 63-81.
- Schimleck, L.R., A.J. Michell, C.A. Raymond, A. Muneri (1999). "Estimation of basic density of *Eucalyptus globulus* using near-infrared spectroscopy" *Can. J. Forest Res.* **29**: 194-201.
- Shorthouse, J.D., O. Rohfritsch (1992). *Biology of Insect-induced Galls*. New York, Oxford University Press.
- Schvester, D., F. Ughetto (1986). "Différences de sensibilité à *Matsucoccus feytaudi* DUC (Homoptera: Margarodidae) selon les provenances de pin maritime (*Pinus pinaster* AIT)" *Ann. Sci. For.* **43** (4): 459-474.
- Silen, R.R., D.L. Olson, J.C. Weber (1993). "Genetic variation in susceptibility to windthrow in young Douglas-fir" *Forest Ecology and Management* **61**: 17-28.
- Stiling, P., A.M. Rossi (1996). "Complex effects of genotype and environment on insect herbivores and their enemies" *Ecology* **77** (7): 2212-2218.
- Stone, C., J.A. Simpson, R. Gittins (1998). "Differential Impact of Insect Herbivores and Fungal Pathogens on the *Eucalyptus* Subgenera *Symphyomyrtus* and *Monocalyptus* and Genus *Corymbia*" *Australian Journal of Botany* **46** (6): 723-734.
- Stone, G.N., K. Schönrogge (2003). "The adaptive significance of insect gall morphology" *TRENDS in Ecology and Evolution - Elsevier* **18** (10): 512-522.
- Swart, W.J., D.G.M. Donald, J.M. Theron (1996). "Screening of *Pinus radiata* progenies for resistance to *Sphaeropsis sapinea*" *South African Forestry Journal* **175** (1): 15-18.
- Terdwongworakul, A., V. Punsuwan, W. Thanapase, S. Tsuchikawa (2005). "Rapid assessment of wood chemical properties and pulp yield of *Eucalyptus camaldulensis* in

- Thailand tree populations by near-infrared spectroscopy for improving wood selection for high quality pulp" *Journal of Wood Science* **51**: 167-171.
- Toda, T., M. Tajima, K. Nishimura, H. Takeuchi (1993). Resistance breeding to the Pine Wood Nematode in Kyushu district – Progress of study after selection of the resistance clones. *Bulletin of the Forest Tree Breeding Institute* **11**: 37–88.
- Urso-Guimarães, M.V., C. Scareli-Santos (2006). "Galls and gall makers in plants from the Pé-de-Gigante Cerrado Reserve, Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil" *Brazilian Journal of Biology* **66** (1b): 357-369.
- Viggiani, G., S. Laudonia, U. Bernardo (2001). "A seguito dell'introduzione accidentale in Italia – Aumentano gli insetti dannosi agli eucalipti". *Avversità delle piante – l'informatore agrario* 12/2001.
- Viggiani, G., S. Laudonia, U. Bernardo (2002). Aumentano gli insetti dannosi agli eucalipti. *Inf. Agrario* **58**: 86–87.
- Viggiani, G., M. Nicotina (2001). "The eulophid leaf gall-making of eucalypts *Ophelimus eucalypti* (Gahan) (Hymenoptera: Eulophidae) in Campania" *Boll. Zoo. Agraria Bachicoltura* **33** (1): 79-82.
- Wainhouse, D., R., Ashburner (1996). "The influence of genetic and environmental factors on a quantitative defensive trait in spruce" *Functional Ecology* **10** (1): 137-143.
- Watson, L., M.J. Dallwitz (2003). British insects: the families of Hymenoptera. Version: 25th November 2008. <http://delta-intkey.com>
- Williams, M.A.J. (1994). *Plant Galls: Organisms, Interactions, Populations*. Oxford, Clarendon Press: 488pp.
- Wingfield, M.J., W.J. Swart (1994). "Integrated management of forest tree diseases in South Africa" *Forest Ecology and Management* **65**: 11-16.
- Whitham, T.G. (1989). "Plant hybrid zones as sinks for pests" *Science* **244** (4911): 1490-1493.
- Whitham, T.G., G.D. Martinsen, K.D. Floate, H.S. Dungey, B.M. Potts, P. Keim (1999). "Plant hybrid zones affect biodiversity: tools for a genetic-based understanding of community structure" *Ecology* **80** (2): 416–428.
- Ylioja, T., H. Roininen, J. Heinonen, M. Rousi (2000). "Susceptibility of *Betula pendula* clones to *Phytobia betulae*, a dipteran miner of birch stems" *Canadian Journal of Forest Research* **30**: 1824-1829.
- Yukawa, J. (1983). "Arthropod community centred upon the Neolitsea leaf gall midge, *Pseudasphondylia neolitseae* Yukawa (Diptera, Cecidomyiidae) and its host plant, *Neolitsea sericea* (Blume) Koidz. (Lauraceae)" *Mem. Fac. Agr. Kagoshima Univ.* **19**: 89-96.

- Zas, R., L. Sampedro, E. Prada, J. Fernández-López (2005). "Genetic variation of *Pinus pinaster* Ait. seedlings in susceptibility to the pine weevil *Hylobius abietis* L." *Ann. For. Sci.* **62**: 681-688.
- Zas, R., L. Sampedro, E. Prada, M.J. Lombardero, J. Fernández-López (2006). "Fertilization increases *Hylobius abietis* L. damage in *Pinus pinaster* Ait. seedlings" *Forest Ecology and Management* **222**: 137-144.

### Literatura Adicional

[http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67\\_1/scutellatus.html](http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/V67_1/scutellatus.html)

<http://www.crcforestry.com.au/newsletters/downloads/ICE-Burgess.pdf>

- Agrawal, A.A., M.F. Sherriffs (2001). "Induced plant resistance and susceptibility to late-season herbivores of wild radish". *Annals of the Entomological Society of America* **94** (1): 71-75.
- Blanche, K.R., M. Westoby (1995). "Gall-forming insect diversities linked to soil fertility via host plant taxon" *Ecology* **76**: 2334-2337.
- Blanche, K.R. (2000). "Diversity of insect-induced galls along a temperature-rainfall gradient in the tropical savannah region of the Northern Territory, Australia" *Austral Ecol.* **25**: 311-318.
- Blanche, K.R., J.A. Ludwig (2001). "Species richness of gall-inducing insects and host plants along an altitudinal gradient in Big Bend National Park, Texas" *The American Midland Naturalist* **145** (2): 219-232.
- Boecklen, W.J., R. Spellenberg (1990). "Structure of herbivore communities in 2 oak (*Quercus* spp.) hybrid zones" *Oecologia* **85** (1): 92-100.
- Boroni, N.L.M., L.G. Assunção, T.S.P. Toma (2007). Distribuição diferencial de galhas nas margens de trilhas e no interior de um fragmento de mata atlântica em Viçosa-MG. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu – MG: 2pp.
- Castagnoli, M., S. Simoni, A. Panconesi, O. Failla (2002). "Susceptibility of cypress seedlings to the eriophyoid mite *Trisetacus juniperinus*" *Experimental and Applied Acarology* **26**: 195–207.
- Crisóstomo, J.R., E. Bleicher, A.G. Rosetti, J.N. Oliveira, J.F. Silva, J.W. Cardoso, J.G. Freitas, J.I.F. Junior (2005). Resistência de linhagens, progênies e híbridos experimentais de melão à mosca-branca. *UFC*: 4 pp.
- Drake, DW. (1981). "Reproductive success of 2 eucalyptus hybrid populations II: comparison of pre-dispersal seed parameters" *Australian Journal of Botany* **29** (1): 37-48.

- Floate, K.D., M.J.C. Kearsley, T.G. Whitham (1993). "Elevated herbivory in plant hybrid zones: *Chrysomela confluenta*, *Populus* and phenological sinks" *Ecology* **74** (7): 2056-2065.
- Floate, K.D., T.G. Whitham (1993). "The hybrid bridge hypothesis - host shifting via plant hybrid swarms" *American Naturalist* **141** (4): 651-662.
- Fritz, R.S., B.M. Roche, S.J. Brunsfeld, C.M. Orians (1996). "Interspecific and temporal variation in herbivore responses to hybrid willows" *Oecologia* **108** (1): 121-129.
- Fritz, R.S., S.E. McDonough, A.G. Rhoads (1997). "Effects of plant hybridization on herbivore parasitoid interactions" *Oecologia* **110** (3): 360-367.
- Fritz, R.S., C.G. Hochwender, D.A. Lewkiewicz, S. Bothwell, C.M. Orians (2001). "Seedling herbivory by slugs in a willow hybrid system: developmental changes in damage, chemical defense, and plant performance" *Oecologia* **129** (1): 87-97.
- Kodrík, J., M. Kodrík (2002). "Root biomass of beech as a factor influencing the wind tree stability" *Journal of Forest Science* **48** (12): 549-564.
- Lara, D.P., L.A. Oliveira, I.F.P. Azevedo, M.F. Xavier, F.A.O. Silveira, M.A.A. Carneiro e G.W. Fernandes (2008). "Relationships between host plant architecture and gall abundance and survival" *Revista Brasileira de Entomologia* **52** (1): 78-81.
- Martinsen G.D., Whitham T.G. (1994). "More birds nest in hybrid cottonwood trees" *Wilson Bulletin* **106** (3): 474-481.
- Moreira, É.A., A.S. Miranda, C.F. Sperber (2007). Por que há diferença na quantidade de galhas entre folhas?. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*, Caxambu – MG: 2pp.
- Moulia, C. (1999). "Parasitism of plant and animal hybrids: are facts and fates the same?" *Ecology* **80** (2): 392-406.
- O'Reilly-Wapstra, J.M., B.M. Potts, C. McArthur, N.W. Davies, P. Tilyard (2001). "Inheritance of resistance to mammalian herbivores and of plant defensive chemistry in an Eucalyptus species" *Journal of Chemical Ecology* **31** (2): 357-375.
- Orians, C.M., T. Floyd (1997). "The susceptibility of parental and hybrid willows to plant enemies under contrasting soil nutrient conditions" *Oecologia* **109**: 407-413.
- Orians, C.M., C.H. Huang, A. Wild, K.A. Dorfman, P. Zee, M.T.T. Dao, R.S. Fritz (1997). "Willow hybridization differentially affects preference and performance of herbivorous beetles" *Entomologia Experimentalis et Applicata* **83** (3): 285-294.
- Orians, C.M., M.E. Griffiths, B.M. Roche, R.S. Fritz (2000). "Phenolic glycosides and condensed tannins in *Salix sericea*, *S. eriocephala* and their F1 hybrids: not all hybrids are created equal" *Biochemical Systematics and Ecology* **28**: 619-632.

- Paige, K.N., W.C. Capman (1993). "The effects of host-plant genotype, hybridization, and environment on gall-aphid attack and survival in cottonwood: the importance of genetic studies and the utility of RFLPs" *Evolution* **47** (1): 36-45.
- Parr, A., A.D. Cameron (2004). "Effects of tree selection on strength properties and distribution of structural roots of clonal Sitka spruce" *Forest Ecology and Management* **195**: 97-106.
- Pilson, D. (1999). "Plant hybrid zones and insect host range expansion" *Ecology* **80** (2): 407–415.
- Ramírez, C.C., F. Zamudio, J.V. Verdugo, M.E. Nuñez (2004). "Differential susceptibility of poplar hybrids to the aphid *Chaitophorus leucomelas* (Homoptera: Aphididae)" *Journal of Economic Entomology* **97** (6): 1965-1971(7).
- Raymond, C.A., L.R. Schimleck (2002). "Development of near-infrared reflectance analysis calibrations for estimating genetic parameters for cellulose content in *Eucalyptus globulus*" *Can. J. Forest Res.* **35**: 170-176.
- Soares, G.L.G., R.M.S. Isaias, S.J.M.R. Gonçalves, J.C.S. Christiano (2000). "Alterações químicas induzidas por coccídeos galhadores (Coccoidea, Brachyscelidae) em folhas de *Rollinia laurifolia* Schdtl. (Annonaceae)" *Rev. bras. de Zoociências Juiz de Fora* **2** (1): 103-116.
- Stokes, A., B.C. Nicoll, M.P. Coutts, A.H. Fitter (1997). "Responses of young Sitka spruce clones to mechanical perturbation and nutrition: effects on biomass allocation, root development, and resistance to bending" *Can. J. For. Res.* **27**: 1049-1057.
- Strauss, S.Y. (1994). "Levels of herbivory and parasitism in host hybrid zones" *Trends in Ecology & Evolution* **9** (6): 209-214.
- Tibbitts, W.N., D.B. Boomsma, S. Jarvis (1997). Distribution, biology, genetics, and improvement programs for *Eucalyptus globulus* and *E.nitens* around the world. In 24<sup>th</sup> Biennial Southern Forest Tree Improvement Conference, Orlando, Florida.
- Toloza, A.C., A. Lucia, E. Zerba, H. Masuh, M.I. Picollo (2008). "Interspecific hybridization of *Eucalyptus* as a potential tool to improve the bioactivity of essential oils against permethrin-resistant head lice from Argentina" *Bioresource Technology* **99**: 7341-7347.
- Vanstone, V.A., M.H. Russ (2001). "Ability of weeds to host the root lesion nematodes *Pratylenchus neglectus* and *P. thornei*. II. Broad-leaf weeds". *Australasian Plant Pathology* **30** (3): 251-258.
- Wilcken, C.F., E.B. Filho (2008). Vespa-da-galha do eucalipto (*Leptocybe invasa*) (Hymenoptera: Eulophidae): Nova praga de florestas de eucalipto no Brasil. *Programa de Proteção Florestal PROTEF/IPEF*: 1-11.
- Whitham, T.G., P.A. Morrow, B.M. Potts (1991). "Conservation of hybrid plants" *Science* **254** (5033): 779-780.

- Whitham, T.G., P.A. Morrow, B.M. Potts (1994). "Plant hybrid zones as centers of biodiversity—the herbivore community of 2 endemic Tasmanian eucalypts" *Oecologia* **97** (4): 481-490.
- Yukawa, J., U. Nami (1999). "Can galls expand the host range to alien plants within a short period of time?" *Esakia* **39**: 1-7.
- Yukawa, J. (2000). "Synchronization of galls with host plant phenology" *Pop. Ecol.* **42**: 105-113.

**ANEXOS**

# ANEXO 1

Quadro 1 – Adaptação de *Leptocybe invasa* a diversas espécies de eucalipto (Mendel *et al.*, 2004).

Subgênero de <i>Eucalyptus</i>	Secção	Séries	Espécies	Adaptação
<i>Corymbia</i>  <i>Eudesmia</i> <i>Symphyomyrtus</i>	Septentrionales	Maculatae	<i>citriodora</i>	–
		Maculatae	<i>maculata</i>	–
		Torellianae	<i>torelliana</i>	–
	Limbata	Heteroptera	<i>erythrocorys</i>	–
	Adnataria	Siderophloiae	<i>crebra</i>	–
		Buxaeales	<i>hemiphloia</i> = <i>moluccana</i>	–
		Melliodorae	<i>leucoxylon</i>	–
		Siderophloiae	<i>melanophloia</i>	–
		Heterophloiae	<i>polyanthemus</i>	–
		Buxaeales	<i>populnea</i>	–
		Melliodorae	<i>sideroxylon</i>	–
		Erectae	<i>astrigens</i>	–
		Dundasianae	<i>dundasii</i>	–
		Elongatae	<i>erythronema</i>	–
	Bisecta	Loxophlebae	<i>loxophleba</i>	–
		Erectae	<i>occidentalis</i>	–
		Erectae	<i>platypus</i>	–
		Contortae	<i>salubris</i>	–
		Erectae	<i>sargentii</i>	–
		Erectae	<i>spathulata</i>	–
		Stricklandiae	<i>stricklandii</i>	–
		Bolites	<i>gomphocephala</i>	–
	Dumaria	Rufispermae	<i>kondininensis</i>	–
		Torquatae	<i>torquata</i>	–
		Rufispermae	<i>woodwardii</i>	–
	Exsertaria	Rostratae	<i>camaldulensis</i>	+
		Erythroxylo	<i>tereticornis</i>	+
	Latoangulata	Annulares	<i>botryoides</i>	+
		Transversae	<i>grandis</i>	+
		Annulares	<i>robusta</i>	+
		Transversae	<i>saligna</i>	+
	Maidenaria	Bridgesianae	<i>bridgesiana</i>	+
		Globulares	<i>globulus</i>	+
		Orbiculares	<i>gunii</i>	+
		Viminales	<i>viminalis</i>	+
		Sejuncta	<i>cladocalyx</i>	–



Quadro 2 - Sucesso do desenvolvimento de *Ophelimus maskelli* em diversas espécies de eucalipto (SD = Desenvolvimento com sucesso; AND = Atacado, sem desenvolvimento), em Israel (Protasov *et al.*, 2007).

Subgênero de <i>Eucalyptus</i>	Secção	Séries	Espécies	SD	AND
<i>Angophora</i>	Reticulatae Septentrionales	Floribundinae	<i>woollsiana</i> R.Baker	-	
<i>Blakella</i>		Miniatae	<i>miniata</i> A.Cunn. ex Schauer	-	
<i>Corymbia</i>		Maculatae	<i>citriodora</i> Hook	-	-
		Naviculares	<i>eximia</i> Schauer	-	
		Maculatae	<i>maculata</i> Hook.	-	+
	Dorsiventrales		<i>ptychocarpa</i> F.Muell.	-	
		Torellianae	<i>torelliana</i> F.Muell.	-	+
<i>Eucalyptus</i>	Pedaria	Diversiformae	<i>diversifolia</i> Bonpl.	-	
	Longistylus	Preissianae	<i>preissiana</i> Schauer.	-	
	Longitudinales	Longitudinales	<i>moorei</i> Maiden & Cambage	-	
<i>Eudesmia</i>	Limbata	Heteroptera	<i>erythrocorys</i> F.Muell.	-	-
<i>Symphyomyrtus</i>	Adnataria	Buxaeales	<i>albens</i> Benth.	-	+
		Aquilonares	<i>coolabah</i> Blakely & Jacobs	-	
		Siderophloiae	<i>crebra</i> F.Muell.	-	
		Buxaeales	<i>hemiphloia</i> Maiden	-	
		Buxaeales	<i>intertexta</i> R.Baker	-	
		Buxaeales	<i>lansdowneana</i> F.Muell. & J.Brown	-	
		Meliiodorae	<i>leucoxyton</i> F.Muell.	-	
		Siderophloiae	<i>melanophloia</i> F.Muell.	-	+
		Meliiodorae	<i>meliiodora</i> A.Cunn. ex Schauer	-	+
		Aquilonares	<i>microtheca</i> F.Muell.	-	
		Heterophloiae	<i>polyanthemos</i> Schauer	-	
		Aquilonares	<i>populifolia</i> Desf.	-	-
		Buxaeales	<i>populnea</i> F.Muell.	-	
		Meliiodorae	<i>sideroxyton</i> Cunn. ex Woolls	-	
	Bisectae	Erectae	<i>annulata</i> Benth.	-	
		Erectae	<i>astringens</i> Maiden	-	+
		Brockwayanae	<i>brockwayi</i> C.Gardner	-	+
		Lehmannianae	<i>burdettiana</i> Blakely & Steedman	-	
		Curviptera	<i>burracoppinensis</i> Maiden & Blakely	-	
		Heterostemonas	<i>calycogona</i> Turcz.	-	
		Contortae	<i>campaspe</i> S.Moore	-	-
		Lehmannianae	<i>conferruminata</i> D.Carr & S.Carr	-	
		Cornutae	<i>cornuta</i> Labill.	-	-
		Elongatae	<i>dielsii</i> C.Gardner	-	
		Dundasianae	<i>dundasii</i> Maiden	-	+
		Erectae	<i>eremophila</i> Maiden	-	
		Elongatae	<i>erythronema</i> Turcz.	-	-
		Porantherae	<i>foecunda</i> Schauer	-	
		Subulatae	<i>gillii</i> Maiden	-	+
		Obliquae	<i>grossa</i> F.Muell. ex Benth.	-	
		Kruseanae	<i>kruseana</i> F.Muell.	-	+

		Loxophlebae	<i>loxophleba</i> Benth	-	+
		Erectae	<i>occidentalis</i> Endl.	-	-
		Curviptera	<i>orbifolia</i> F.Muell.	-	
		Curviptera	<i>pachyphylla</i> F.Muell.	-	
		Erectae	<i>platypus</i> Blakely	-	
		Levispermae	<i>redunca</i> Schauer	-	
		Salmonophloiae	<i>salmonophloia</i> F.Muell.	-	-
		Contortae	<i>salubris</i> F. Muell.	-	-
		Erectae	<i>sargentii</i> Maiden	-	-
		Erectae	<i>spathulata</i> Hook.	-	-
		Stricklandiae	<i>stricklandii</i> Maiden	-	-
		Curviptera	<i>websteriana</i> Maiden	-	
	Bolites		<i>gomphocephala</i> DC.	-	+
	Dumaria	Incrassatae	<i>angulosa</i> Schauer	-	+
		Rufispermae	<i>clelandii</i> Maiden.	-	-
		Rufispermae	<i>cyanophylla</i> Brooker	-	
		Dumosae	<i>dumosa</i> A.Cunn. ex Oxley.	-	
		Quadricostatae	<i>forrestiana</i> Diels.	-	
		Rufispermae	<i>kondininensis</i> Maiden & Blakely	-	-
		Rufispermae	<i>lesouefii</i> Maiden.	-	-
		Tetrapterae	<i>tetraptera</i> Turcz.	-	
		Torquatae	<i>torquata</i> Luehm.	-	-
		Rufispermae	<i>woodwardii</i> Maiden	-	+
	Exsertaria	Rostratae	<i>camaldulensis</i> Dehnh.	+	+
		Singulares	<i>rudis</i> Endl.	+	
		Erythroxylo	<i>tereticornis</i> syn. <i>Umbellata</i> Smith.	+	
	Latoangulata	Annulares	<i>botryoides</i> Smith.	+	+
		Transversae	<i>grandis</i> W.Hill ex Maiden	+	
		Annulares	<i>robusta</i> Smith.	+	
		Transversae	<i>saligna</i> Smith.	+	+
	Maidenaria	Bridgesianae	<i>bridgesiana</i> R.Baker	+	
		Argyrophyllae	<i>cinerea</i> F.Muell. ex Benth.	+	
		Globulares	<i>globulus</i> Labill.	+	
		Orbiculares	<i>gunii</i> J.D.Hook	+	
		Acaciiformes	<i>nicholii</i> Maiden & Blakely	+	
		Orbiculares	<i>pulverulenta</i> Sims	+	
		Viminales	<i>viminalis</i> Labill.	+	-
	Platysperma	Brevifoliae	<i>brevifolia</i> F.Muell.	+	
	Sejuncta	Microcorythae	<i>cladocalyx</i> F.Muell.	+	-

## ANEXO 2

Quadro 1 – Código dos genótipos dos híbridos de *Eucalyptus* sp. amostrados e dos seus progenitores.

Código dos híbridos	Susceptibilidade	Mãe		Pai		Nº de plantas
H.315.19	S	<i>E.trabutii</i>	tb/esc139	<i>E.globulus</i>	gb/a16	3
H. 291.03	S	<i>E.rudis</i>	rd/esc127	<i>E.globulus</i>	gb/a16	3
H.546.29	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc1	<i>E.globulus</i>	gb/mn15	3
H.197.01	R	<i>E.nitens</i>	ni/vnp6	<i>E.globulus</i>	gb/tb6	3
H.546.16	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc3	<i>E.globulus</i>	gb/lb264	2
H.545.16	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc3	<i>E.globulus</i>	gb/lb264	3
77000	R	<i>E.grandis</i>	GD1	<i>E.globulus</i>	CN32	3
BAR1	R	<i>E.grandis</i>	GD3	<i>E.globulus</i>	CN32	3
H.259.04	S	<i>E.algeriensis</i>	ag/esc59	<i>E.globulus</i>	gb/a17	3
H.270.01	S	<i>E.botryoides</i>	bt/esc136	<i>E.globulus</i>	gb/b45	3
H.363.07	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/esc65	<i>E.globulus</i>	gb/mj6	3
H.590.10	R	<i>E.camaldulensis</i>	cm/esc65/90	<i>E.globulus</i>	gb/mn14/90	3
H.575.09	R	<i>E.tereticornis</i>	tt/esc87/90	<i>E.globulus</i>	gb/cn32/89	3
H.552.41	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc3	<i>E.globulus</i>	gb/cn44/89	3
H.563.21	S	<i>E.rudis</i>	rd/esc47/90	<i>E.globulus</i>	gb/cn32/89	3
H.633.19	R	<i>E.botryoides</i>	bt/esc69/90	<i>E.globulus</i>	gb/mn35/90	3
H.669.06	R	<i>E.ovata</i>	ov/esc112/91	<i>E.globulus</i>	gb/re42/90	3
H.563.01	S	<i>E.rudis</i>	rd/esc47/90	<i>E.globulus</i>	gb/cn32/89	3
H.217.01	S	<i>E.nitens</i>	ni/vnp6	<i>E.algeriensis</i>	ag/esc40	3
H.220.02	S	<i>E.nitens</i>	ni/vnp22	<i>E.trabutii</i>	tb/esc119	3
BAR7	R	<i>E.grandis</i>	GD1	<i>E.rudis</i>	RD-ESC47	3
H.549.16	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc2	<i>E.trabutii</i>	tb/esc70	3
77003	S	<i>E.trabutii</i>	TB/ESC119	<i>E.grandis</i>	GD/ESC	3
H.315.07	S	<i>E.trabutii</i>	tb/esc139	<i>E.globulus</i>	gb/a16	3
H.553.02	S	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	<i>E.algeriensis</i>	ag/esc130/92	3
H.543.20	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc3	<i>E.viminalis</i>	vm/esc138	3
H.369.01	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/esc65	<i>E.grandis</i>	gd/esc150	3
H.597.04	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/esc65/90	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	3
H.561.10	S	<i>E.rudis</i>	rd/esc47/90	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	3
H.554.18	S	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	<i>E.botryoides</i>	bt/esc137/92	3
H.661.25	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/ma8/91	<i>E.botryoides</i>	bt/esc69/90	3
H.663.07	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/ma8/91	<i>E.trabutii</i>	tb/esc139/92	3
H.555.05	S	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	<i>E.rudis</i>	rd/esc134/92	3
H.558.07	S	<i>E.saligna</i>	sa/esc2/89	<i>E.trabutii</i>	tb/esc70/90	3
H.646.05	S	<i>E.camaldulensis</i>	cm/ma1/91	<i>E.botryoides</i>	bt/esc69/90	3
H.532.01	R	<i>E.grandis</i>	gd/esc3	<i>E.viminalis</i>	vm/esc8	2
H.523.25	S	<i>E.grandis</i>	gd/esc2	<i>E.viminalis</i>	vm/esc138	3

### ANEXO 3

Quadro 1 – Código dos genótipos de *Eucalyptus globulus* e dos seus progenitores, sua susceptibilidade a *Leptocybe invasa* e número de plantas amostradas.

Genótipos <i>E.globulus</i>	Susceptibilidade	Mãe	Pai	Nº de plantas
400873	R	246	0	1
401610	S	297	0	2
100001002	S	1147	1287	2
100111079	S	1277	1272	1
100763018	R	1462	1075	2
100765006	R	1415	1075	2
100785018	R/S	1252	1213	2
100881026	S	1204	115	1
100890034	S	1605	130	2
100890036	S	1605	130	3
100891005	S	1204	2	2
100909035	R	105001	121	1
101425002	R	-	-	1
AZZUR	S	1284	1180	1
FN24	R	132	0	3
FT11	R	142	0	2
FT15	R	132	0	1
LB225	R	-	-	2
<i>E. Tereticornis</i>	S	-	-	2

## ANEXO 4

### Correlações em famílias de *Eucalyptus globulus*

- Entre as duas datas de amostragem para o ataque de *L. invasa*

**Descriptive Statistics**

	Mean	Std. Deviation	N
PercatLI_F	3,6111	6,62801	18
PercatLI_M	1,9500	2,90198	18

**Correlations**

		PercatLI_F	PercatLI_M
PercatLI_F	Pearson Correlation	1	,693**
	Sig. (2-tailed)		,001
	N	18	18
PercatLI_M	Pearson Correlation	,693**	1
	Sig. (2-tailed)	,001	
	N	18	18

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

- Entre as duas datas de amostragem para o ataque de *O. maskelli*

**Descriptive Statistics**

	Mean	Std. Deviation	N
PercatOM_F	6,8667	9,36087	18
PercatOM_M	6,6333	7,06816	18

**Correlations**

		PercatOM_F	PercatOM_M
PercatOM_F	Pearson Correlation	1	,373
	Sig. (2-tailed)		,128
	N	18	18
PercatOM_M	Pearson Correlation	,373	1
	Sig. (2-tailed)	,128	
	N	18	18

## ANEXO 5

Testes em genótipos híbridos de *Eucalyptus* sp.

- Diferenças entre genótipos com e sem um dos progenitores *E. globulus*

### Between-Subjects Factors

	N
comglob 0	265
1	280

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercT\_LI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1625.879 <sup>a</sup>	1	1625.879	7.058	.008
Intercept	46823.301	1	46823.301	203.250	.000
comglob	1625.879	1	1625.879	7.058	.008
Error	125092.562	543	230.373		
Total	173097.820	545			
Corrected Total	126718.441	544			

a. R Squared = .013 (Adjusted R Squared = .011)

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PCTAT\_QM

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	24,635 <sup>a</sup>	1	24,635	,043	,835
Intercept	306604,317	1	306604,317	538,124	,000
comglob	24,635	1	24,635	,043	,835
Error	309382,455	543	569,765		
Total	616092,460	545			
Corrected Total	309407,090	544			

a. R Squared = ,000 (Adjusted R Squared = -,002)

### Estimates

Dependent Variable: PercT\_LI

comglob	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	11.000	.932	9.169	12.832
1	7.545	.907	5.763	9.326

### Estimates

Dependent Variable: PCTAT\_OM

com glob	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
0	23,940	1,466	21,060	26,821
1	23,515	1,426	20,713	26,317

- Diferenças na percentagem de ataque por *L. invasa* e *O. maskelli* entre os genótipos híbridos de *Eucalyptus* sp.

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercT\_LI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	65981,170 <sup>a</sup>	36	1832,810	15,329	,000
Intercept	44802,381	1	44802,381	374,722	,000
Codigo	65981,170	36	1832,810	15,329	,000
Error	60737,270	508	119,562		
Total	173097,820	545			
Corrected Total	126718,441	544			

a. R Squared = ,521 (Adjusted R Squared = ,487)

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PCTAT\_OM

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	167719,163 <sup>a</sup>	36	4658,866	16,704	,000
Intercept	299119,836	1	299119,836	1,072E3	,000
Codigo	167719,163	36	4658,866	16,704	,000
Error	141687,927	508	278,913		
Total	616092,460	545			
Corrected Total	309407,090	544			

a. R Squared = ,542 (Adjusted R Squared = ,510)

## ANEXO 6

Testes em famílias de *Eucalyptus globulus* sp. *globulus*

- Diferenças entre genótipos na amostragem de Fevereiro

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercTatac\_LI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6426,688 <sup>a</sup>	17	378,040	17,812	,000
Intercept	1757,168	1	1757,168	82,791	,000
Genotipo	6426,688	17	378,040	17,812	,000
Error	3013,844	142	21,224		
Total	11803,670	160			
Corrected Total	9440,532	159			

a. R Squared = ,681 (Adjusted R Squared = ,643)

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercTatac\_OM

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11831,867 <sup>a</sup>	17	695,992	7,300	,000
Intercept	6378,797	1	6378,797	66,901	,000
Genotipo	11831,867	17	695,992	7,300	,000
Error	13539,219	142	95,347		
Total	32255,150	160			
Corrected Total	25371,086	159			

a. R Squared = ,466 (Adjusted R Squared = ,402)

- Diferenças entre genótipos na amostragem de Maio

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercTatac\_LI

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1103,496 <sup>a</sup>	17	64,912	2,542	,001
Intercept	511,973	1	511,973	20,048	,000
Genotipo	1103,496	17	64,912	2,542	,001
Error	3626,323	142	25,537		
Total	5193,580	160			
Corrected Total	4729,819	159			

a. R Squared = ,233 (Adjusted R Squared = ,142)



### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercTatac\_OM

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	8201,492 <sup>a</sup>	17	482,441	4,020	,000
Intercept	5926,891	1	5926,891	49,383	,000
Genotipo	8201,492	17	482,441	4,020	,000
Error	17042,703	142	120,019		
Total	32944,820	160			
Corrected Total	25244,195	159			

a. R Squared = ,325 (Adjusted R Squared = ,244)

- Diferenças entre as duas espécies presentes no parque relativamente à percentagem de ataque por *L. invasa* e *O. maskelli*, na amostragem de Fevereiro.

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercatLI\_F

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3263,102 <sup>a</sup>	1	3263,102	74,279	,000
Intercept	4115,629	1	4115,629	93,685	,000
nsp	3263,102	1	3263,102	74,279	,000
Error	746,818	17	43,930		
Total	4862,830	19			
Corrected Total	4009,920	18			

a. R Squared = ,814 (Adjusted R Squared = ,803)

### Estimates

Dependent Variable: PercatLI\_F

nsp	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	3,611	1,562	,315	6,907
2	62,300	6,628	48,316	76,284

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercatOM\_F

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44,669 <sup>a</sup>	1	44,669	,510	,485
Intercept	44,669	1	44,669	,510	,485
nsp	44,669	1	44,669	,510	,485
Error	1489,640	17	87,626		
Total	2338,360	19			
Corrected Total	1534,309	18			

a. R Squared = ,029 (Adjusted R Squared = -,028)

### Estimates

Dependent Variable: PercatOM\_F

nsp	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	6,867	2,206	2,212	11,522
2	1,005E-15	9,361	-19,750	19,750

- Diferenças entre as duas espécies presentes no parque relativamente à percentagem de ataque por *L. invasa* e *O. maskelli*, na amostragem de Maio.

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercatLI\_M

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3659,327 <sup>a</sup>	1	3659,327	434,523	,000
Intercept	4132,992	1	4132,992	490,768	,000
nsp	3659,327	1	3659,327	434,523	,000
Error	143,165	17	8,421		
Total	4320,420	19			
Corrected Total	3802,492	18			

a. R Squared = ,962 (Adjusted R Squared = ,960)

### Estimates

Dependent Variable: PercatLI\_M

nsp	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	1,950	,684	,507	3,393
2	64,100	2,902	57,977	70,223

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: PercatOM\_M

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	41,685 <sup>a</sup>	1	41,685	,834	,374
Intercept	41,685	1	41,685	,834	,374
nsp	41,685	1	41,685	,834	,374
Error	849,300	17	49,959		
Total	1641,320	19			
Corrected Total	890,985	18			

a. R Squared = ,047 (Adjusted R Squared = -,009)

### Estimates

Dependent Variable: PercatOM\_M

nsp	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
1	6,633	1,666	3,118	10,148
2	7,598E-16	7,068	-14,913	14,913

## ANEXO 7

Variação inter-anual na percentagem de ataque por *L. invasa*

- Diferenças entre genótipos híbridos de *Eucalyptus* sp.

### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: pctat\_li

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9909,381 <sup>a</sup>	37	267,821	2,579	,003
Intercept	15423,365	1	15423,365	148,520	,000
ano	2103,431	1	2103,431	20,255	,000
clonen	7805,950	36	216,832	2,088	,015
Error	3738,501	36	103,847		
Total	29071,247	74			
Corrected Total	13647,883	73			

a. R Squared = ,726 (Adjusted R Squared = ,445)

- Diferenças entre os anos de amostragem

### Between-Subjects Factors

	N
ano 2007	37
2008	37

### Group Statistics

ano	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
pctat_li 2007	37	19,7684	14,05993	2,31144
2008	37	9,1054	11,09043	1,82326

### Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
pctat_li	Equal variances assumed	3,705	,058	3,622	72	,001	10,66297	2,94398	4,78426	16,53169
	Equal variances not assumed			3,622	68,298	,001	10,66297	2,94398	4,78882	16,53713

